E & A

# TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

JAARGANG 57 - 1951

1e AFLEVERING

29 MAR
Eu. 86

Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

INHOUD

HOOFDARTIKELEN Blz.

D. NOORDAM, T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT – Onderzoekingen over anjermozaiek I. *With a summary: Investigations on carnation mosaic I* . . . 1

W. P. N. VLASVELD – Het schurftonderzoek in de jaren 1947 en 1948 en de waarnemingen in 1949. *With a summary: Investigations and Observations on Scab-disease in 1947, 1948 and 1949* . . . . . 15

KORTE MEDEDELINGEN

J. A. VON ARX en D. NOORDAM – Valse meeldauw *(Peronospora pulveracea* FUCKEL) op *Helleborus niger. Mit Zusammenfassung: Peronospora pulveracea Fuckel auf Helleborus niger* . . . . . 32

N. J. HENDRIX – De Graanloopkever *(Zabrus tenebrioides* GOEZE) . . . . . 35

F. E. LOOSJES – Enige proeven met bestrijdingsmiddelen tegen de larve van de lapsnuittor (= taxuskever), schadelijk aan cyclamenplanten. *With a summary: Control experiments against Otiorrhynchus sulcatus L. noxious to Cyclamens* . . . 38

BESTUUR
VAN DE NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Prof. Dr Joha Westerdijk, Baarn, *voorzitster*.
Mej. Dr L. C. P. Kerling, Binnenhaven 4a, Wageningen, *secretaresse*.
Dr Ir J. W. Seinhorst, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, *penningmeester*. Postrekening no 346310 t.n.v. Penningm. Ned. Plantenziektenkundige Vereniging, Wageningen.
Ir C. W. C. van Beekom, Middelharnis.
C. Houtman, Hoorn.
Dr A. D. Voute, Oosterbeek.
Prof. Dr D. J. Kuenen, Leiden.

*Lidmaatschap Ned. Plantenziektenkundige Vereniging*

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 5,—, België f 5,50 of 75 francs, Buitenland f 6,—. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

*Abonnement Tijdschrift*

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,—, België f 7,— of 90 francs. Buitenland f 10,—. Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen. Voor België op Postrekening 115754 van de Heer G. Roland, ingénieur agronome te Gembloux.

*Advertentiën*

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 7,50, ¼ pag. f 12,50, ½ pag. f 20,—, 1 pag. f 35,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.
Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

## NEDERLANDSE NAMEN VOOR PLANTENZIEKTEN BIJ LANDBOUWGEWASSEN

De redactie-commissie vestigt bij deze nogmaals de aandacht op de lijst van Nederlandse namen voor Plantenziekten bij landbouwgewassen, uitgegeven in 1941 vanwege de Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging.
Zij verzoekt tevens de schrijvers van artikelen voor het Tijdschrift over Plantenziekten van deze naamlijst gebruik te willen maken. De naamlijst kan alsnog aangevraagd worden voor de prijs van f 0.25 bij de Uitgevers H. Veenman & Zonen te Wageningen.

DE REDACTIE-COMMISSIE

# TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

**57e JAARGANG (1951)** **1e AFLEVERING** **JAN.-FEBR.**


## ONDERZOEKINGEN OVER ANJERMOZAIEK, I [1] [2]

*With a summary: Investigations on Carnation Mosaic, I*


DOOR

D. NOORDAM [3], T. H. THUNG en J. P. H. VAN DER WANT

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen


### I. INLEIDING

#### A. *Voorkomen in Nederland*

In Nederland komt een ziekteverschijnsel in Amerikaanse anjers voor, dat oppervlakkig beschouwd enigszins doet denken aan een aantasting door thrips en bladluis, maar dat ook bij afwezigheid van deze insecten optreedt. De ziekteverschijnselen doen ook denken aan in de literatuur (4, 6, 7, 9) beschreven virusziekten. Het vermoeden, dat we met een virusziekte te doen hebben, werd versterkt door het volgende verschijnsel. Bij een kweker vertoonde een partij van het anjerras P. Fisher een normale groei en bloei, terwijl een andere partij het bovengenoemde ziektebeeld liet zien, slecht groeide en een verminderde opbrengst aan bloemen opleverde. Het verschil in gezondheid en groei van de twee partijen was in dit geval zeer opvallend, aangezien deze twee partijen tegelijkertijd naast elkaar in de lengte op één bed gepoot waren.

In het najaar van 1948 werden te Aalsmeer entproeven uitgevoerd, die in het volgende hoofdstuk zullen worden besproken. Toen bij het beëindigen van deze proeven in het najaar van 1949 was gebleken, dat dit mozaïek besmettelijk was en dat het vermoedelijk door een virus werd veroorzaakt, terwijl het voorts tot belangrijke opbrengstderving aanleiding kon geven, zijn dit redenen geweest de practijk hiervan in kennis te stellen (11). De N.A.K.S. afd. Anjers en de Plantenziektenkundige Dienst houden naar aanleiding hiervan thans bij de keuring van anjerstek ook rekening met het voorkomen van mozaïek.

#### B. *Bespreking van de literatuur*

In de Ver. Staten van N.-Amerika is in de laatste tien jaren aandacht besteed aan virusziekten in Amerikaanse anjers. CREAGER (6) en JONES (9) refereren ook


[1]) Ontvangen voor publicatie Juni 1950.

[2]) Verschijnt tevens als Meded. no 11 van het Inst. voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.)


[3]) Gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemencultuur te Aalsmeer.

de oudere literatuur, die op deze ziekte betrekking heeft. CREAGER (6) bevestigde het resultaat van PELTIER (12), die aantoonde, dat de ziekte op gezonde enten overgaat. JONES (9) bracht de ziekte over op zaailingen en onderscheidt op grond van de resultaten van deze proeven twee viren nl.:

1. „Mosaic", dat door enten en met sap is over te brengen, maar niet door de bladluis *Myzus persicae* SULZ.

2. „Streak", dat door enten en door *Myzus persicae* SULZ. is over te brengen, maar in tegenstelling tot „mosaic" niet met sap overgaat.

Een derde ziekte „yellows" wordt volgens JONES veroorzaakt door het voorkomen van „mosaic" en „streak" in dezelfde plant.

THOMAS (14) volgt de onderscheiding van JONES van de drie virusziekten bij anjers. Het gelukte THOMAS „mosaic" mechanisch en „streak" en „yellows" met behulp van plakenting op een aantal plantensoorten over te brengen.

C. *Beschrijving van het ziektebeeld*

In Nederland vallen de zieke planten van het ras P. Fisher bij oppervlakkige beschouwing soms al op door een geringe bladmisvorming: de bladrand is onregelmatig gegolfd en het blad is iets bobbelig. Dikwijls blijven de jonge bladeren in elkaar vastzitten en trekken krom. De bladeren van de zieke planten zijn kleiner, de groei van de planten is minder goed en de bloemen zijn van mindere kwaliteit dan normaal.

Op de bladeren ziet men geelachtige, soms meer grijs-bruine, waterige vlekjes ter grootte van $\frac{1}{3}$–$\frac{1}{2}$ mm. Bij doorvallend licht zijn deze vlekjes doorschijnend en steken geel af tegen de ondoorschijnende groene kleur van het blad. Een aantal van deze vlekjes kan met elkaar versmolten zijn en een grotere vlek of een lijntje vormen. De doorschijnende vlekjes bevatten in het centrum meestal dood weefsel, dat ondoorschijnend is. Is dit dode weefsel in een jong stadium aanwezig, dan veroorzaakt dit bij het verder uitgroeien van het nog levende weefsel, bovengenoemde misvorming van het blad.

Bij zeer vele planten vertonen de jongste bladeren lichte groene vlekken, strepen of kringen; op oudere bladeren zijn deze verschijnselen niet meer te zien. Deze lichtgroene tekening kan zó uitgesproken zijn, dat zij niet is te onderscheiden van de bovenbeschreven doorschijnende vlekjes. De doorschijnende vlekken blijven echter ook op de oudere bladeren zichtbaar in tegenstelling tot de lichtgroene tekening.

Het bovenstaande is een beschrijving van het ziektebeeld bij P. Fisher. Deze beschrijving geldt in hoofdzaak ook voor ziekteverschijnselen, die bij andere Amerikaanse anjerrassen werden gevonden. Er komen echter verschillen voor in de grootte en vorm van de doorschijnende vlekjes. Bij de rassen Puritan en Orchid Beauty is het weefsel om de centrale dode vlek dikwijls paars gekleurd. Bij sommige rassen sterft het blad bij het ouder worden ten dele af, terwijl dit bij andere rassen in het geheel niet plaats heeft.

## II. EIGEN ONDERZOEK

A. *Entproeven*

Om aan te tonen, dat we inderdaad met een virusziekte te doen hadden, werd P. Fisher-stek geplukt, dat sterk de ziekteverschijnselen, in de inleiding beschreven, vertoonde, terwijl ook stek geplukt werd van een meer gezonde partij,

die van de ziekteverschijnselen geheel vrij was. Na bewortelen en oppotten werden met behulp van spleetenting op deze onderstammen enten gezet, die al of niet ziekteverschijnselen vertoonden. Behalve P. Fisher-enten werden ook enten van 3 andere rassen gebruikt. Voorjaar 1949 zijn de planten, waarbij de enting was geslaagd uitgepoot in een kas. Geteld werden de aantallen bloemen, die de geënte planten opleverden en aan het einde van de proef (einde November 1949) werd nog het aantal op de planten aanwezige knoppen geteld. Tevens werd geteld hoeveel planten ziektesymptomen vertoonden. De gegevens en resultaten van deze proef zijn samengevat in tabel I.

TABEL I (*Table I*)

| | Aantal planten *Number of plants* | Aantal hiervan ziek *Number diseased* | Gem. hoogte in cm *Mean height in cm* | Aantal bloemen *Number of flowers* | Aantal knoppen *Number of buds* | Aantal bloemen plus knoppen op 25 planten omgerekend *Number of flowers + buds per 25 plants* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Totaal *Total* | In % |
| Betty Lou: | | | | | | | |
| op gezonde [1]) P. Fisher . . . | 22 | 3 | 89 | 26 | 37 | 72 | 100 |
| op zieke [2]) P. Fisher . . . | 16 | 16 | 81 | 15 | 23 | 60 | 83 |
| Chief Kokomo: | | | | | | | |
| op gezonde P. Fisher . . . . | 25 | 5 | 89 | 21 | 36 | 57 | 100 |
| op zieke P. Fisher . . . . | 28 | 20 | 84 | 8 | 32 | 36 | 63 |
| Doris Allwood: | | | | | | | |
| op gezonde P. Fisher . . . . | 26 | 26 | 77 | 3 | 5 | 8 | 100 |
| op zieke P. Fisher . . . . | 29 | 29 | 66 | 7 | 4 | 10 | 125 |
| P. Fisher gez. op gez. P. Fisher . | 26 | 10 | 102 | 31 | 60 | 88 | 100 |
| P. Fisher gez. op zieke P. Fisher . | 24 | 24 | 83 | 11 | 33 | 46 | 51 |
| P. Fisher ziek op gez. P. Fisher . | 23 | 23 | 79 | 15 | 35 | 54 | 61 |
| P. Fisher gez. op zieke P. Fisher . | 20 | 20 | 83 | 8 | 30 | 48 | 55 |

[1]) gez. = *healthy*
[2]) ziek = *diseased*

Uit deze proef is op te maken:

1. De ziekte gaat met ent en onderstam over op de gezonde onderstam of ent. De enige uitzondering kwam voor bij Chief Kokomo; bij 8 van de 20 planten kon niet met zekerheid geconstateerd worden, dat de planten ziek waren.

2. Wanneer gezonde onderstammen en gezonde enten gebruikt zijn, blijkt het grootste gedeelte van de planten gezond. Dat een aantal planten bij het beëindigen van de proef niet meer gezond was, vindt zijn verklaring misschien in het plaats vinden van infectie gedurende de proef of in het feit, dat de ziekteverschijnselen bij de opzet van de proef niet zichtbaar waren, terwijl toch onderstam of ent ziek was. Van D. Allwood waren ook de planten op gezonde onderstam ziek, wat hieraan toegeschreven moet worden, dat alle planten, waarvan D. Allwood-stek geplukt werd, ziekteverschijnselen bleken te vertonen, zij het minder duidelijk dan P. Fisher.

Uit 1 en 2 blijkt, dat de ziekte door enting is over te brengen. Op grond hiervan

en op grond van het ziektebeeld kunnen we concluderen, dat we met een virusziekte te doen hebben.

3. De opbrengst aan bloemen is bij de gezonde planten hoger dan bij de zieke planten. Uit de kolom van de tabel, waar het aantal bloemen plus knoppen, geproduceerd door de „gezonde" series, gelijk is gesteld aan 100, blijkt dit voor de planten met zieke onderstam of ent belangrijk (bij P. Fisher zelfs 50 procent) minder te zijn. Daar deze proef voor een opbrengstvergelijking niet geheel verantwoord was opgezet, moeten de genoemde percentages slechts als zeer globale waarden worden beschouwd. De enige uitzondering, Doris Allwood, dient buiten beschouwing te blijven, daar het aantal bloemen en knoppen te klein was om waarde aan deze aantallen te kunnen hechten en Doris Allwood bovendien in de zieke en „gezonde" partij voor 100 procent ziek was. Ook de kwaliteit van de bloemen der zieke planten is minder dan die van de gezonde; de bloemen zijn kleiner en bij Betty Lou b.v. meer gevlekt en gestreept dan normaal.

4. Ook uit de gemeten lengte der planten komt naar voren, dat de gezonde planten van betere kwaliteit zijn; de gemiddelde hoogte van de planten is nl. groter dan van de zieke.

B. *Inoculatieproeven*

1. met *Dianthus barbatus*

Met sap, uitgeperst uit toppen van mozaïekzieke anjerplanten, werden bladeren van duizendschoonplanten (*Dianthus barbatus*) geïnoculeerd. De te inoculeren bladeren waren vooraf met fijn carborundumpoeder bestrooid en zij werden na ingewreven te zijn met het virushoudend sap direct afgesproeid met kraanwater. Reeds na 4 dagen werden op de geïnoculeerde bladeren van duizendschoon geelgroene verkleuringen zichtbaar, terwijl 8 dagen na de inoculatie duidelijke beige tot witgekleurde ringvormige figuren en vaak concentrische ringetjes van 1 mm tot enkele mm in doorsnede optraden (fig. 2). Elf dagen na de inoculatie vertoonden zich eveneens kleine ringvormige figuren op de jongere, niet ingewreven bladeren; hierbij kwamen ook geelgroene min of meer onregelmatige verkleuringen voor. Bij doorgroeien van de planten waren de ringvormige symptomen op de jongste bladeren minder geprononceerd. Hiervoor in de plaats trad meer een bontheid op. Alle inoculaties op duizendschoon slaagden ten volle. Er waren geen planten, die niet besmet werden.

Werden met het sap van geïnfecteerde duizendschoon-planten gezonde *Dianthus barbatus*-planten geïnoculeerd, dan werden hierop dezelfde locale en verspreidingssymptomen verkregen als bij de planten, die met het sap van viruszieke anjers waren geïnoculeerd. Uit deze proeven blijkt, dat *Dianthus barbatus* wegens zijn duidelijke en snelle reactie zeer geschikt is als toetsplant voor genoemd virus. Bij verdere onderzoekingen over dit virus is dan ook ruimschoots van duizendschoon als proefplant gebruik gemaakt.

2. Met aster, tabak en boon

Andere planten, die met sap van mozaïekzieke anjers werden geïnoculeerd, waren: aster (*Callistephus* spec.) en tabak (*Nicotiana tabacum* var. White Burley). Met deze planten werden merkwaardige resultaten verkregen. Op slechts enkele der geïnoculeerde bladeren van de genoemde plantensoorten ontstonden na 1 tot 2 weken bruine vlekken van circa 3 mm middellijn (fig. 3).

Fig. 1. Bladeren van mozaïekzieke Amerikaanse anjer (*Dianthus caryophyllus*).
(*Leaves of carnation* (*Dianthus caryophyllus*) *showing mosaic*)

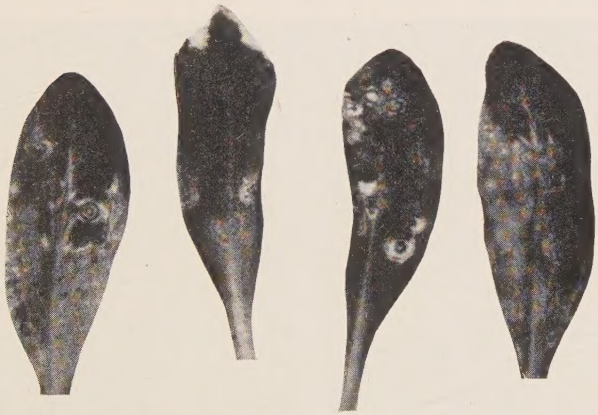


Fig. 2. Bladeren van duizendschoon (*Dianthus barbatus*), geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjer.
(*Leaves of Sweet William* (*Dianthus barbatus*) *inoculated with sap from mosaic-diseased carnation*)

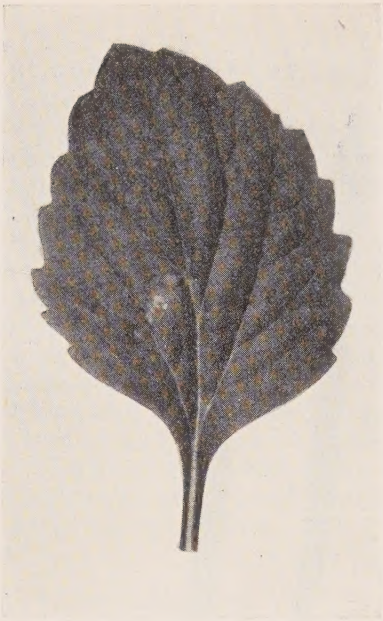


Fig. 3
Blad van aster (*Callistephus* sp.), geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjer. Enkele locale vlekken zijn zichtbaar.
(*Leaf of aster* (*Callistephus sp.*) *showing some local lesions after inoculations with sap from mosaic-diseased carnation*)

Fig. 4
Blad van tabak (*Nicotiana tabacum* var. White Burley), waarvan de linker helft is geïnoculeerd met anjermozaïekvirus na passage door aster.
(*Leaf of tobacco* (*Nicotiana tabacum var. White Burley*) *showing local lesions. The left half of the leaf was inoculated with carnation mosaic virus after passage through aster*)

Fig. 5. Electronenfoto van gezuiverd anjermozaïekvirus, afkomstig van *Dianthus barbatus;* „shadow-cast" met Pd. De meeste deeltjes zijn ongeveer 33 mμ in diameter, maar sommige zijn kleiner (ongeveer 17 mμ). Foto vervaardigd door Dr A. C. VAN DORSTEN op het Laboratorium W.O. van Philips N.V. te Eindhoven.
(*Electron micrograph of a purified preparation of carnation mosaic virus, derived from Dianthus barbatus; shadow-cast with Pd. Most of the particles are about* 33 *mμ in diameter, but some are smaller* (*about* 17 *mμ*). *Micrograph made by Dr* A. C. VAN DORSTEN, *Laboratorium W.O., Philips N.V., Eindhoven.*)

Soms waren deze vlekken omgeven door een concentrische bruine ring.

Slechts 1 van de 10 geïnoculeerde asterplanten vertoonde ruim een maand na de inoculatie verspreidingssymptomen, te weten „vein clearing" en fijne necrotische stipjes, verspreid over de bladoppervlakte. Geen der tabaksplanten, al dan niet reagerend met locale necrose, vertoonde verspreidingssymptomen.

Enkele locale vlekken op tabak werden uitgeknipt met een ontsmette schaar en fijn gewreven met een weinig water. Het aldus verkregen sap werd uitgestreken op bladeren van 5 duizendschoonplanten en op enkele bladhelften van 2 tabaksplanten. Alle duizendschoonplanten vertoonden na 1 week dezelfde ringvormige locale verschijnselen, die ook verkregen worden na inoculatie met sap van mozaïekzieke anjers. Twee weken na de inoculatie traden voorts de reeds beschreven verspreidingssymptomen op.

De tabaksbladeren vertoonden na de inoculatie zeer veel necrotische ringetjes en vlekjes (fig. 4). Verspreidingssymptomen traden op tabak niet op. De locale verschijnselen doen zeer veel denken aan die, welke met tabaksnecroseviren worden verkregen (3, 5, 10).

Met sap, geperst uit de locale vlekken op aster werden bij duizendschoon en tabak gelijke resultaten verkregen.

Van de ziekgeworden tabaksbladeren (de met sap van tabak geïnoculeerde zowel als de met sap van aster geïnoculeerde) werd sap gewonnen, waarmee bonenplanten (*Phaseolus vulgaris* var. Dubbele witte z.dr.) werden geïnoculeerd. Alle bonen vertoonden na 7 dagen necrotische nerven en stipvormige bruine vlekjes op de geïnoculeerde bladeren. Hierbij trad verdorring van het blad op. Na ruim 3 weken waren ook necrosen op de topbladeren en stengels waar te nemen. Dit ziektebeeld komt overeen met dat van het stippelstreep van de boon, waarvan bekend is, dat het door een tabaksnecrosevirus wordt teweeggebracht (3).

Ook met het sap van *Dianthus barbatus*, besmet met het anjermozaïekvirus, konden stippelstreep-verschijnselen op boon worden teweeggebracht, ofschoon de symptomen minder hevig waren dan in de zojuist beschreven proeven. De locale necrosen waren nl. minder talrijk, terwijl slechts 1 van de 5 geïnoculeerde bonenplanten met verspreidingssymptomen reageerde.

De geïnoculeerde bladeren van de overige planten vielen nl. spoedig af, waarschijnlijk voordat het virus in de stengel was doorgedrongen. Ook dit is bekend van tabaksnecroseviren (3).

Bonenplanten, geïnoculeerd met sap van mozaïekzieke anjers, reageerden in het geheel niet.

Uit deze proeven is niet met zekerheid te zeggen wat er bij passage van het anjervirus via aster en tabak gebeurt. Het is mogelijk, dat in het sap van zieke anjers twee viren voorkomen, die beide in staat zijn *Dianthus barbatus* aan te tasten. Men kan zich voorstellen, dat een van deze viren echter in zeer geringe concentratie voorkomt. Deze concentratie zou wel voldoende zijn om er in enkele gevallen op tabak of aster locale necrose mee te verwekken, doch onvoldoende om er symptomen op boon mee te verkrijgen. Op tabak en aster zou dan een dermate vermeerdering van dit virus plaats hebben, dat het wel verschijnselen van stippelstreep op boon kan teweegbrengen. Ook zou de concentratie van deze component na passage door *Dianthus barbatus* voldoende zijn geworden om er met succes bonen mee te besmetten.

Aan de andere kant is het denkbaar, dat in de anjer slechts één virus voorkomt, dat ten gevolge van de passage door aster of tabak en in mindere mate door

*Dianthus barbatus* dermate kan worden geactiveerd, dat het ook voor boon agressief wordt.

3. Met anjer.

Om de garantie te hebben, dat het uitgangsmateriaal absoluut virusvrij is, werden de inoculatieproeven verricht op anjerzaailingen, opgekweekt in gestoomde grond uit zaad, dat in de handel verkrijgbaar is. Het bezwaar van dergelijk materiaal is, dat het erfelijk heterogeen kan zijn, hetgeen blijkt uit de verschillen in bloemkleur. Het is dus te verwachten, dat de wijze van reageren op een smetstof tussen de planten uit één zaaisel onderling kan verschillen.

Als inoculum deed dienst: *a.* sap van *Dianthus barbatus*, besmet met anjervirus; *b.* sap van tabak, besmet met anjervirus na passage door tabak; *c.* sap van tabak besmet met anjervirus na passage door aster.

In deze drie series proeven ontstonden op sommige geïnoculeerde bladeren der zaailingenanjers na circa een week geel-groene diffuse verkleuringen, die af en toe vergezeld gingen van rood-bruin getinte vlekken. Circa drie weken na de inoculatie vertoonden enkele proefplanten een lichte bontheid in de topbladeren. Later hadden de meeste planten duidelijke mozaïeksymptomen in de jongste bladeren. Niet alle planten reageerden evenwel duidelijk, zodat rechtstreeks niet te zeggen was of alle planten werkelijk besmet waren. Zekerheid over deze vraag kon slechts verkregen worden door van elke anjerplant sap uit te wrijven op een aantal duizendschoonplanten. Inderdaad bleek het sap van iedere anjerplant uit elk der drie series tot de bekende, boven beschreven symptomen op *Dianthus barbatus* aanleiding te geven. *Dianthus barbatus* geïnoculeerd met sap van onbehandelde anjerzaailing bleef daarentegen vrij van enig ziektebeeld. Hiermee is aangetoond, dat de smetstof, die op duizendschoon het ringpatroon en bontheid en op aster en tabak locale necrose teweegbrengt in staat is bij anjer mozaïek te veroorzaken.

C. *Eigenschappen van het virus in vitro*

Voor deze proeven deed als toetsplant *Dianthus barbatus* dienst. In een serie werd sap van viruszieke anjers gedurende 10 minuten in reageerbuizen verhit in een waterbad van resp. 50°, 60°, 70°, 80° en 90° C. Na de verhitting werden de buizen snel in stromend water afgekoeld. Daarna werden met de verhitte sapmonsters telkens 5 toetsplanten geïnoculeerd. Hierbij werd carborundumpoeder toegepast.

In een tweede serie werd sap van viruszieke anjers verdund met gedestilleerd water in de volgende verhoudingen: $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$ en $10^{-5}$. Met elke verdunning werden eveneens 5 toetsplanten geïnoculeerd.

De resultaten zijn samengevat in tabel II.

Het anjervirus blijkt dus een hoge inactiveringstemperatuur (tussen 80° en 90° C) te bezitten en een lage verdunningsgrens (beneden $10^{-5}$).

D. *Zuivering van het virus*

Sap van mozaïekzieke anjerplanten werd uitgeperst, waarna per 100 $cm^3$ sap 30 $cm^3$ 90 % aethylalcohol werd toegevoegd. Deze bewerking brengt verschillende normale sapbestanddelen, als eiwitten en bladgroenkorrels, tot coaguleren. Het viruseiwit blijft echter in oplossing. Na afcentrifugeren van het coagulum werd aan de afgeschonken heldere vloeistof 25 g ammoniumsulfaat per 100 $cm^3$

TABEL II (*Table II*)

| | Inactiveringstemperatuur (*Thermal inactivation point*) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | onbeh. sap (*untreated sap*) | 50° C | 60° C | 70° C | 80° C | 90° C |
| Resultaten [1]) (*results* [1])) . . | $^5/_5$ | $^5/_5$ | $^3/_5$ | $^3/_5$ | $^4/_5$ | $^0/_5$ |
| | Verdunningsgrens (*Dilution end point*) | | | | | |
| | onbeh. sap (*undiluted sap*) | $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | $10^{-4}$ | $10^{-5}$ |
| Resultaten [1]) (*results* [1])) . . | $^5/_5$ | $^5/_5$ | $^5/_5$ | $^5/_5$ | $^4/_5$ | $^2/_5$ |

[1]) De noemer is het aantal geïnoculeerde *Dianthus barbatus*-planten; de teller het aantal planten met symptomen.

(*The denominator is the number of inoculated Dianthus barbatus plants; the numerator the number of plants showing symptoms*)

vloeistof toegevoegd. Het witte neerslag, dat zich hierna vormde, werd na enkele uren afgecentrifugeerd en in een weinig water opgenomen.

Deze geconcentreerde virusoplossing werd gedurende enige uren in stromend leidingwater gedialyseerd. Hierbij vormde zich een neerslag, hetgeen na dialyseren werd afgecentrifugeerd. De heldere vloeistof diende daarna als inoculum voor enige tabaksplanten (White Burley), duizendschoonplanten en asters.

De duizendschoonplanten reageerden na ongeveer 1 week met de bekende ringsymptomen op de geïnoculeerde bladeren, terwijl op de tabak en de asters locale bruine vlekken optraden. Hiermee was aangetoond, dat het virus van de anjer de zuivering, zoals boven beschreven, zonder verlies van infectieuziteit had doorstaan. Er zijn nog te weinig pogingen gedaan het virus in kristallijne staat af te zonderen.

E. *Electronenmicroscopie*

Voor dit deel van het onderzoek werd anjervirus volgens de in de vorige paragraaf beschreven methode geïsoleerd uit hiermee op natuurlijke wijze besmette anjerplanten en uit *Dianthus barbatus*, die kunstmatig was besmet.

Het virus werd in verschillende verdunningen naar het Wetenschappelijk Laboratorium der Philips Fabrieken te Eindhoven gezonden, waar er door Dr A. C. VAN DORSTEN electronenfoto's van werden gemaakt. [1])

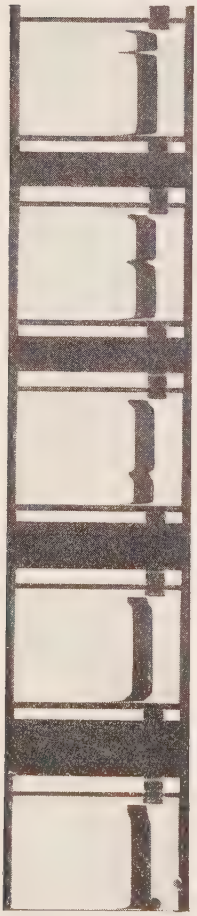
De electronenfoto's van het anjervirus vertonen een groot aantal bolvormige deeltjes, welke ontbreken in het sap van gezonde anjers. Op grond van het resultaat van de electronenmicroscopie van andere plantenviren (15) kan worden aangenomen, dat deze deeltjes de smetstof vertegenwoordigen.

De resultaten van ons serologisch onderzoek, die in de volgende paragraaf zullen worden meegedeeld, bevestigen eveneens de waarneming, dat wij met bolvormige virusdeeltjes te maken hebben.

Eén der opnamen van het anjervirus, geïsoleerd uit *Dianthus barbatus* is weer-

[1]) Schrijvers willen ook gaarne op deze plaats dank betuigen aan de leiding van de Philips Fabrieken en aan Dr A. C. VAN DORSTEN voor de hulp, die zij bij het electronenmicroscopisch onderzoek mochten ontvangen.

gegeven in fig. 5. Uit metingen verricht op deze en andere vervaardigde opnamen is te concluderen, dat de meeste deeltjes een diameter hebben van circa 33 mμ. Daarnaast komen evenwel deeltjes voor met een middellijn van ongeveer 17 mμ. Het is nog niet uitgemaakt of dit wijst op het voorkomen in het preparaat van twee verschillende viren of stammen van hetzelfde virus, dan wel dat deeltjes van verschillende diameter verschillende stadia in de vorming van hetzelfde virus voorstellen. Op deze plaats dient vermeld te worden, dat BAWDEN en VAN DER WANT (3) in de electronenfoto's van het stippelstreepvirus van de boon naast talrijke bolvormige deeltjes van circa 17 mμ ook enkele met een grotere diameter (nl. ongeveer 34 mμ) waarnamen. Het mengsel kon niet op eenvoudige wijze (door passage er van door verschillende planten) gescheiden worden. Waren in de foto's van het stippelstreepvirus van de boon de grotere virusdeeltjes in minderheid aanwezig, bij het electronenmicroscopisch onderzoek van het anjervirus blijken de deeltjes met een diameter van circa 17 mμ in kleiner aantal voor te komen dan de deeltjes met een diameter van circa 33 mμ.



Anjervirus, met behulp van ammoniumsulfaat uit sap van zieke „P. Fisher" geïsoleerd, is door Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK en Drs H. REERINK [1]) op het Van 't Hoff-Laboratorium te Utrecht met de Spinco ultracentrifuge onderzocht. Het sendimentatie-diagram is weergegeven in fig. 6. De eiwitconcentratie in het viruspreparaat bedroeg 0,25 % (bepaald volgens de micro-Kjeldahlmethode door Ir C. A. KOPPEJAN [2]) op het Laboratorium voor Zuivelbereiding en Melkkunde te Wageningen). De snelheid bij het centrifugeren bedroeg 42040 toeren per minuut. Uit het toelichtend schrijven bij het sedimentatie-diagram van Drs REERINK ontlenen wij het volgende;

„We hebben te doen met een mengsel van twee stoffen, die in ongeveer gelijke gewichtsconcentratie voorkomen. Een van beide (waarschijnlijk virus?) heeft een hoog moleculair gewicht; de sedimentatie-constante heeft een waarde van 108. $10^{-13}$, hetgeen overeenkomt met een moleculair gewicht van ongeveer 6.000.000 als we de bolvorm aannemen. De andere component heeft een veel kleiner moleculair gewicht naar ruwe schatting tussen 2000 en 10000. De piek in het sedimentatie-diagram is in het tijdsverloop van de proef nog niet van de meniscus los-

Fig. 6. Sedimentatie-diagram van een gezuiverd preparaat van het anjermozaiekvirus bij een snelheid van 42040 toeren per min. Tijd, verlopen tussen 4e en 5e foto: 10 min.; tussen de overige 4 min. Vervaardigd door Prof. Dr J. TH. G. OVERBEEK en Drs H. REERINK met een Spinco ultracentrifuge, Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht.

*(Sedimentation diagram of purified preparation of carnation mosaic virus. Speed 42040 r.p.m.; time between 4th and 5th photo 10 min.; between the others 4 min. Made by Prof. Dr* J. TH. G. OVERBEEK *and Drs* H. REERINK *with a Spinco ultracentrifuge, Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht.)*

[1]) Schrijvers willen Prof. OVERBEEK en Drs REERINK ook op deze plaats gaarne danken voor de medewerking bij het onderzoek ondervonden.

[2]) Ook Ir KOPPEJAN zijn schrijvers zeer erkentelijk voor zijn hulp.

gekomen en het is daardoor niet mogelijk een sedimentatie-constante te bepalen."

Zeer waarschijnlijk wordt deze tweede component gevormd door normale eiwitten, die met behulp van de toegepaste zuiveringsmethode niet verwijderd konden worden. Ook tijdens het serologisch onderzoek is gebleken, dat het gezuiverde viruspreparaat nog een belangrijke hoeveelheid normale antigenen bevatte. Mogelijk zijn deze identiek aan de met de ultracentrifuge aangetoonde tweede component.

Het onderzoek met de ultracentrifuge heeft het voorkomen van deeltjes met een kleinere diameter, die in de electronenfoto's werden waargenomen, niet bevestigd. Mogelijk is de concentratie van deze deeltjes te gering om er iets van waar te nemen op het sedimentatie-diagram.

F. *Serologie*

Nu gebleken was, dat het anjervirus door een eenvoudige methode gezuiverd kon worden van een belangrijk deel der normale sapbestanddelen werd getracht een antiserum tegen dit virus te bereiden. Nog voordat bekend was, dat zuivering van dit virus mogelijk was, werden 3 konijnen intraveneus ingespoten met sap van mozaïekzieke anjers. Dit sap was daartoe eerst gedurende 1 uur gecentrifugeerd bij 3400 omwentelingen per min., waarbij het gros van het bladgroen werd neergeslagen. Het sap was hierna echter nog groenachtig getint; het werd in gelijke volumendelen met physiologische zoutoplossing verdund. Van deze verdunning werd 1 $cm^3$ ingespoten bij 1 konijn; twee andere konijnen ontvingen ieder 2 $cm^3$ van deze verdunning. Deze laatste dieren waren echter na 36 uur gestorven. Het eerste dier had geen zichtbare schade ondervonden. Hieruit blijkt, dat anjersap in een bepaalde dosis letaal is voor konijnen. Dit berust waarschijnlijk op de oplossing van rode bloedlichaampjes door bepaalde stoffen in het sap. Rode bloedlichaampjes van een konijn, die twee maal gewassen waren in physiologische zoutoplossing, gesuspendeerd in physiologisch zoutoplossing en toegevoegd aan anjersap, werden nl. snel opgelost. Dit had zowel plaats bij sap van gezonde als van zieke anjers.

Later werden 3 konijnen gedurende 5 weken 2 maal per week ingespoten met anjervirus, dat volgens de in de vorige paragraaf beschreven werkwijze was gezuiverd. De dosis werd geleidelijk verhoogd tot 5 $cm^3$. De dieren ondervonden hiervan geen nadeel, hetgeen aantoont, dat de toxische stof of stoffen verdwenen was of waren.

Het serum, dat van deze dieren werd gewonnen, bleek de gewenste antilichamen te bevatten tegen het anjermozaïekvirus. Tevens waren echter antilichamen tegen normale bestanddelen van het anjersap in het serum aanwezig. De toegepaste zuiveringsmethode is dus kennelijk onvoldoende geweest om alle normale antigenen uit het sap te verwijderen. Het is zelfs niet ondenkbaar, dat bij het concentreren van het virus door middel van ammoniumsulfaat eveneens een concentratie van deze normale antigenen tot stand is gekomen.

Vóór het serum kan worden gebruikt om het anjervirus aan te tonen moet het dus verzadigd worden met sap van gezonde anjers. Daartoe werd dit sap, na uitpersen, verhit tot 60° C en vervolgens gecentrifugeerd. De heldere vloeistof werd gemengd met serum en gedurende enige uren bij 37° C geplaatst. Het neerslag, dat hierbij werd gevormd, werd vervolgens afgecentrifugeerd. Er werd zoveel sap van gezonde anjerplanten toegevoegd totdat geen neerslag meer ontstond.

Voor het aantonen van anjervirus werd gebruik gemaakt van de micro-preci-

pitatie-reactie in de hangende druppel (15). Het met gezond sap verzadigde serum reageerde sterk met gezuiverd anjervirus. Reeds tijdens de menging van een druppel verzadigd antiserum met een druppel gezuiverd en geconcentreerd anjervirus ontstond een dicht precipitaat, dat kenmerkend is voor een somatisch antigeen (15). Dit was trouwens te verwachten gezien de bolvorm der virusdeeltjes op de electronenfoto's.

Bij het onderzoek van sap van anjerplanten op aanwezigheid van virus werd het mengsel sap-verzadigd antiserum eerst circa 20 minuten bij 37° C geïncubeerd.

De hoogste titer, die verkregen werd, was 1 : 64. Ongetwijfeld zal deze nog kunnen worden opgevoerd. Het sap van alle getoetste, door ons in gestoomde grond opgekweekte anjerzaailingen en van *Dianthus barbatus* bleek geen reactie met verzadigd antiserum te geven. Daarentegen werd wel een precipitatie verkregen met sap van anjerzaailingen en duizendschoonplanten, geïnoculeerd met anjervirus, terwijl verschillende monsters van Amerikaanse anjers, afkomstig uit Aalsmeer, duidelijk positief reageerden.

Het is dus mogelijk met behulp van de precipitatie-reactie een snelle diagnose aangaande het anjermozaïekvirus te stellen.

Naar aanleiding hiervan zal op het Lab. voor Bloembollenonderzoek te Lisse onder leiding van Prof. Dr E. VAN SLOGTEREN in het groot antiserum tegen het anjermozaïek worden bereid. Hiermede zal in Aalsmeer een strenge selectie van het anjergewas mogelijk zijn. Men hoopt aldus te bereiken, dat slechts die anjerplanten voor het winnen van stek overblijven, welke vrij zijn van het mozaïekvirus.

## III. NABESCHOUWING

Bij het bekijken van Amerikaanse anjers in Nederland waren soortgelijke ziekteverschijnselen te constateren als beschreven door BRIERLEY en SMITH (4), CREAGER (6), FORSBERG (7) en JONES (9). Of de ziekteverschijnselen even hevig zijn als in de U.S.A. is niet zeker. De indeling van JONES in „mosaic", „streak" en „yellows" is bij de beschrijving van de ziekteverschijnselen niet gevolgd, daar deze indeling alléén op grond van de symptomen te scherp is. Uit proeven zal pas kunnen blijken of er in Nederland nog meer viren bij anjer voorkomen.

Een opbrengstvermindering van viruszieke planten ten opzichte van gezonde planten werd ook gevonden door CREAGER (zie BRIERLEY en SMITH, 4). Bij King Cardinal werden van zieke planten 19 percent minder bloemen gesneden dan van gezonde.

Een gevlekt zijn van bloemen van viruszieke planten werd, naar de afbeeldingen te oordelen, in de U.S.A. in sterkere mate waargenomen dan in Nederland. De resultaten van de proeven op tabak, aster en boon wijzen in de richting, dat het anjervirus of een stam daarvan - indien men aanneemt, dat verschillende stammen van dit virus bestaan - tot de groep der tabaksnecroseviren behoort. Hiermee in overeenstemming is het feit, dat op de electronenfoto's van gezuiverd anjervirus bolvormige deeltjes werden waargenomen. Het is nl. bekend, dat verschillende tabaksnecroseviren bolvormig zijn (3). De hoge inactiveringstemperatuur (tussen 80° en 90° C), alsmede de lage verdunningsgrens (minder dan $10^{-5}$) van het anjervirus sluiten hierbij aan, hoewel direct hier aan moet worden toegevoegd, dat FULTON (8) een tabaksnecrosevirus heeft geïsoleerd, dat een veel lager inactiveringspunt heeft.

Van de tabaksnecroseviren is bekend, dat zij in de grond kunnen voorkomen

en vandaar de planten kunnen aantasten (1, 3, 5, 8, 10, 13). Zij werden dan ook verscheidene malen geïsoleerd uit wortels van uitéénlopende planten.

Merkwaardig is, dat deze viren doorgaans slechts in de wortels voorkomen; de bovengrondse delen van deze planten blijven vrij van symptomen en virus. Slechts als bladeren van tabak bijv. met sap van besmette wortels worden geïnoculeerd, komen hierop locale necrotische vlekken tot ontwikkeling. Het virus blijft echter in deze vlekken gelocaliseerd. Deze localisatie in de bovengrondse delen doet zich bij verreweg de meeste plantensoorten, die voor dit virus vatbaar zijn, voor. Uitzonderingen zijn evenwel tulp (10, 5) en boon (3), waarop tabaksnecroseviren soms necrotische verspreidingssymptomen doen ontstaan. Een ander uitzonderlijk geval is *Primula obconica* waarin deze viren kunnen voorkomen zonder symptomen te verwekken (1, 13). Indien inderdaad in verder onderzoek, dat thans nog gaande is, het bewijs wordt geleverd, dat anjervirus een tabaksnecrosevirus is, dan wordt aan de lijst van merkwaardige waardplanten een belangrijke toegevoegd. In dit geval zou nl. door een vertegenwoordiger van deze groep een mozaïek worden veroorzaakt bij een economisch belangrijk gewas. Serologische identificatie van het anjervirus als tabaksnecrosevirus wordt in een apart onderzoek opgenomen. Hierbij wordt rekening gehouden met het feit, dat verschillende tabaksnecroseviren serologisch geen verwantschap vertonen (2).

## IV. SAMENVATTING

Een mozaïekziekte van Amerikaanse anjer (*Dianthus caryophyllus*) kon door enting en met sap worden overgebracht. Deze ziekte blijkt tot belangrijke opbrengstvermindering aanleiding te kunnen geven. Het virus veroorzaakt na- uit wrijven op bladeren van duizendschoon (*Dianthus barbatus*) ringvormige vlekjes, terwijl later in de topbladeren van deze planten min of meer ringvormige, vaak concentrische witte figuren optreden; op den duur kan meer geel-groene bontheid als verspreidingssymptoom domineren. Op bladeren van tabak en aster werden na uitwrijven van het sap van mozaïekzieke anjers locale necrotische vlekken verkregen. Met sap van tabaks- en asterbladeren, die deze vlekken vertoonden en met sap van *Dianthus barbatus*, besmet met het anjervirus, konden op boon (*Phaseolus vulgaris* var. Dubbele witte z.dr.) necrotische locale en dito verspreidingssymptomen worden teweeggebracht, die sterk aan stippelstreep van de boon doen denken (3). Rechtstreekse inoculatie op boon met sap van viruszieke anjers leverde echter tot nu toe geen resultaat op.

De inactiveringstemperatuur van het virus ligt tussen 80° en 90° C en de verdunningsgrens lager dan $10^{-5}$. In de electronenfoto's van het gezuiverde virus werden bolvormige deeltjes waargenomen. Het merendeel dezer deeltjes heeft een diameter van circa 33 m$\mu$; in de minderheid zijn deeltjes met een diameter van circa 17 m$\mu$.

Het virus kan partiëel worden gezuiverd met ammoniumsulfaat. Na inspuiting van konijnen met partieel gezuiverd virus werd een antiserum verkregen dat tot in een verdunning 1 : 64 precipitatie gaf met sap van mozaïekzieke anjers.

## V. SUMMARY

A virus disease of carnations occurs in the Netherlands which is characterized by yellowish to grey-brown spots on the leaves (fig. 1). Often these spots coalesce

and form bigger spots or lines, sometimes with necrotic centres. If necrosis occurs when the leaves are young, it results in curling or distortion of the leaves when they grow older. Many diseased plants show lighter green spots, streaks or rings in the young leaves. These mosaic symptoms tend to disappear as the leaves grow older, in contrast with the above-mentioned yellowish or necrotic spots which remain. Diseased plants are smaller than healthy ones; their leaves also are smaller and flowers poorer in quality than those of normal plants. The General Netherlands Inspection Service for Ornamental Plants (N.A.K.S.) and the Phytopathological Service take these symptoms seriously into account at inspection of carnation cuttings.

The symptoms described are characteristic of the carnation variety Peter Fisher and most other varieties react similary. Only in the varieties Puritan and Orchid Beauty has a purple discoloration of the leaf tissue around the necrotic spots been observed.

The disease proved to be transmissible by grafting. Healthy and diseased Peter Fisher plants served as stocks, whereas symptomless material of the varieties Betty Lou, Chief Kokomo, Doris Allwood and Peter Fisher was chosen for scions. The data published in Table I were collected in the course of the experiment.

When both the scions and the stocks used were apparently healthy, most of the grafted plants remained healthy. The explanation of the fact that some plants of the „healthy" series showed symptoms of mosaic at the end of the experiment, may be that these plants became infected during the course of the experiment or that some of the plant parts used were infected, though showing no symptoms. For instance all plants of the variety Doris Allwood that furnished cuttings for the experiment afterwards showed mosaic.

As is evident from Table I, diseased plants produced fewer flowers and the quality of these flowers was also poorer than those of healthy plants. They were smaller than normal and sometimes (e.g. in the variety Betty Lou) spotted and striped.

Sap of mosaic-diseased carnation inoculated into leaves of Sweet William (*Dianthus barbatus*) produced buff-coloured to whitish rings, often in concentric patterns, after 4 to 8 days (fig. 2). Systemic symptoms consisting of small ring like markings or irregular yellowish-green discolorations, appeared 11 days after inoculation.

Inoculation of leaves of aster (*Callistephus* sp.) and tobacco (*Nicotiana tabacum* var. White Burley) resulted in a few necrotic spots which were sometimes surrounded by a concentric ring (fig. 3). Only one out of 10 aster plants afterwards showed systemic symptoms, viz. vein clearing and fine necrotic spots. None of the tobacco plants showed systemic symptoms.

Some of the spots, both from aster and from tobacco, were used as inoculum for *Dianthus barbatus* and new tobacco plants. The *Dianthus barbatus* leaves reacted 1 week after inoculation in the way described above, whereas many local lesions developed on tobacco (fig. 4).

In another experiment the first leaves of young bean plants (*Phaseolus vulgaris* var. Double White Stringless) were inoculated with sap from tobacco leaves showing the above-mentioned local lesions. All bean plants developed dark-coloured local lesions within a week. After 3 weeks most of the inoculated plants showed a systemic necrosis closely resembling the stipple-streak disease of beans (Ref. 3). Sap from *Dianthus barbatus* systemically infected with carnation virus

gave the same local symptoms on beans, though the number of plants showing necrosis of the stem was less (1 out of 5). So far, inoculations of bean plants with sap from diseased carnation plants have not been succesful.

The symptoms obtained on tobacco and bean plants closely resembled those of tobacco necrosis viruses.

Carnations grown from seed in steamed soil were inoculated respectively with (a), sap from *Dianthus barbatus* infected with carnation mosaic virus; (b), sap from tobacco leaves infected with this virus after passage through aster; (c), sap from tobacco leaves infected with this virus after passage through tobacco. After one week some plants reacted with slight local yellowish-green discolorations; sometimes reddish-brown local spots appeared. Three weeks later some plants showed symptoms of mosaic in the top leaves. Later, most plants showed distinct mosaic symptoms in the younger leaves, though not all plants reacted clearly, possibly because the plants were not genetically uniform. Proof that all carnations inoculated had become infected, was obtained by inoculating *Dianthus barbatus* plants with sap from every carnation plant used in the experiment. After one week all *Dianthus barbatus* plants showed the above-mentioned local symptoms, whereas those inoculated with sap from untreated carnations remained symptomless. It was concluded from this experiment, that passage through *Dianthus barbatus*, tobacco or aster does not alter the capacity of the virus to infect carnation.

We are not sure what happens after passage of the carnation virus through *Dianthus barbatus*, aster and tobacco. It is possible that in the sap of diseased carnations two viruses or strains occur, one of which can infect bean. The concentration of this virus may be too small to obtain symptoms by inoculation of bean leaves directly with sap from diseased carnation. Only on tobacco or aster does this virus sometimes give rise to a few local lesions. On these hosts the virus may multiply sufficiently to make inoculation with it into beans successful. In *Dianthus barbatus*, multiplication of this virus might also be stimulated in this way, so that the concentration becomes sufficiently high for infection of bean plants. On the other hand it is possible that in carnation only one virus occurs which, as a consequence of passage through tobacco and aster and to a lesser degree through *Dianthus barbatus*, becomes virulent for beans.

The results of experiments to determine the physical properties of the virus *in vitro* are summarized in Table II. The thermal inactivation point proved to be between 80° and 90° C, whereas the dilution end point lay beyond in $10^{-5}$.

Partial purification of carnation mosaic virus by salting out with ammonium sulphate proved to be possible without loss of its infectivity. The bulk of normal cell constituents had previously been removed by adding 30 ml. 90 % ethyl alcohol to 100 ml. sap expressed from diseased carnation plants.

Partially purified virus, obtained from carnation and from *Dianthus barbatus*, was studied with the electron microscope by Dr A. C. VAN DORSTEN at the Laboratorium W.O., Philips N.V. at Eindhoven. The electron micrographs (fig. 5) show spherical particles. Most of the particles are about 33 mμ in diameter, but smaller ones of about 17 mμ occur. This may point to the presence of two viruses. BAWDEN and VAN DER WANT (Ref. 3) described particles of two sizes in the sap of stipple-streak diseased bean plants; besides many spherical particles of 17 mμ diameter, some bigger ones (about 34 mμ) were observed and it was found impossible to separate these particles in any simple way such as by passing the mixture through test plants.

Partially purified virus, obtained from carnation, was examined in the Spinco ultracentrifuge by Prof. Dr J. Th. G. Overbeek and Drs H. Reerink at the Van 't Hoff Laboratorium, Utrecht. The concentration of protein in the preparation was 0,25 % according to micro-Kjeldahl analysis.

The sedimentation diagram (fig. 6) shows the occurrence of two components: one had a sedimentation constant of $108.10^{-13}$ corresponding with a molecular weight of about 6.000.000; the other was much smaller, having a molecular weight roughly estimated as between 2.000 and 10.000. The last one is probably identical with normal proteins not separated by the purification method followed and they may also act as antigens (see below).

The analysis by ultracentrifugation of the virus preparation does not show the occurrence of the smaller globular particles which were seen in some of the electron micrographs. It is possible that the concentration of this component was too low for ultracentrifugal analysis.

An antiserum against the carnation mosaic virus was prepared by injecting rabbits with partly purified virus. It was necessary to saturate this antiserum with sap from healthy carnation plants before use. This shows that the purification of the virus as described does not get rid of all the antigens which are present in the sap of healthy plants. Saturated antiserum reacted strongly with sap from diseased carnations. A bulky precipitate was formed which also indicates the presence of spherical virus particles.

Antiserum in bigger quantities will be made by the Laboratory for Bulb Research at Lisse unter the direction of Prof. Dr E. van Slogteren. With this antiserum it will be possible to discard diseased plants. The aim is the exclusive cultivation of carnation free from mosaic.

## VI. LITERATUUR


1. Bawden, F. C. and Kassanis, B., Primula obconica, a carrier of tobacco necrosis viruses. Ann. Appl. Biol. 34: 127–135, 1947.
2. Bawden, F. C. and Pirie, N. W., Further studies on the purification and properties of a virus causing tobacco necrosis. Brit. J. Exp. Path. 26: 277–285, 1945.
3. Bawden, F. C. and van der Want, J. P. H., Bean stipple-streak caused by a tobacco necrosis virus. Tijdschr. o. Pl.ziekten 55: 142–150, 1949.
4. Brierley, P. and Smith, F. F., Carnation and gladiolus virus diseases pose serious problems. Flor. Rev. 99: 30–33, 1947.
5. Bruyn Ouboter, M. P. de en van Slogteren, E., Het Augusta-ziek der tulpen een virusziekte van het tabaks-necrosetype. Tijdschr. o. Pl.ziekten 55: 262–267, 1949.
6. Creager, D. B., Carnation mosaic. Phytopath. 33: 823–827, 1943.
7. Forsberg, J. L., Lessons in carnation diseases. No. 5. The virus complex. Carnation Craft, Dec. 1949: 4–5.
8. Fulton, R. W., Variants of the tobacco necrosis virus in Wisconsin. Phytopath. 40: 298–305, 1950.
9. Jones, L. K., Mosaic, streak and yellows of carnation. Phytopath. 35: 37–46, 1945.
10. Kassanis, B., A necrotic disease of forced tulips caused by tobacco necrosis viruses. Ann. Appl. Biol. 36: 14–17, 1949.

11. Noordam, D. en Belgraver, W., Virusziekte bij anjers. Vakbl. Bloemisterij 5: 69, 1950.
12. Peltier, G. L., Carnation diseases. Amer. Florist 46: 725–726, 1916. (Geref. door Creager, Phytopath. 33: 823–827, 1943.)
13. Price, W. C., McWhorter, F. P. and Steranka, B. H., Natural occurrence of tobacco necrosis virus in primrose. Phytopath. 40: 391–392, 1950.
14. Thomas, W. D., Hosts of carnation viruses other than carnation. Carnation Craft, Dec. 1949: 6–8, 1949.
15. Thung, T. H., Grondbeginselen der plantenvirologie. Med. L.H.S. 49, Verh. 4, 1949.

# HET SCHURFTONDERZOEK IN DE JAREN 1947 EN 1948 EN DE WAARNEMINGEN IN 1949 [1])

*With a summary:*
*Investigations and Observations on Scabdisease in 1947, 1948 and 1949*

door

W. P. N. Vlasveld

Tuinbouwconsulentschap voor Plantenziektenbestrijding [2])

## I. INLEIDING

De schurftziekte van appel en peer, resp. veroorzaakt door *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh. en *V. pirina* Aderh., is nog steeds een van de meest gevreesde ziekten van onze fruitteelt.

In 1938 werd op initiatief van Prof. Quanjer het schurftonderzoek in Wageningen begonnen en in dit tijdschrift verschenen in de loop der jaren enige artikelen, waarin de resultaten van het onderzoek werden medegedeeld (2, 5 en 9).

Evenals in de voorafgaande jaren lag in 1947 en 1948 het zwaartepunt van het onderzoek op het voorspellen van de rijpheid der peritheciën en op het nagaan van de ascosporen-uitstotingen in het voorjaar. Tevens werd de betrouwbaarheid van de resultaten aan een nadere beschouwing onderworpen.

Het is gebleken dat, indien men daadwerkelijk er toe wil overgaan de bespuitingen tegen schurft in het voorjaar te richten naar het vrijkomen van de ascosporen, het van essentieel belang is te weten, wanneer de peritheciën rijpen en rijp zijn en wanneer ascosporen-uitstotingen van betekenis (de zgn. hoofd-ascosporen-uitstotingen) verwacht kunnen worden.

Het eerste is een zuiver biologisch proces, afhankelijk van verschillende factoren, die o.m. in 1947 (2) werden besproken. Het tweede punt houdt direct verband met de regenval; ascosporen komen nl. alleen vrij wanneer de peritheciën voldoende vocht kunnen opnemen. De weervoorspelling, speciaal de weervoorspelling op langere termijn, vervult dus wel een zeer belangrijke rol. Temeer, daar de laatste tijd is gebleken, dat de infectievoorwaarden, die sterk van de meteorologische omstandigheden afhangen (o.a. van de temperatuur en van de duur van de regenval) meer aandacht zullen moeten verdienen (13).

[1]) Ontvangen voor publicatie in October 1949 en aangevuld met enige nieuwe gezichtspunten in 1950.

[2]) Per adres Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen.

De Heer J. J. Pettinga, thans adj. ingenieur bij de R.T.V.D., assisteerde mij in 1947 bij het onderzoek en heeft o.m. een belangrijk aandeel gehad bij de wiskundige verwerking van de ascosporentellingen van de „massacontroles" (8).

## II. HET VOORSPELLEN VAN DE RIJPHEID DER PERITHECIËN

Om het rijpingsproces van de peritheciën te kunnen volgen en ascosporenuitstotingen in de natuur te kunnen voorspellen, werd volgens de gebruikelijke methode van de kunstmatige bevochtiging dagelijks een aantal schurftige bladeren, welke buiten onder natuurlijke omstandigheden werden bewaard, of welke in het voorjaar werden verzameld, onderzocht. Deze methode is aan Holz ontleend.

Bladeren worden hiertoe natgemaakt, waarna ze op vochtig filtreerpapier in Petri-schalen worden gelegd. Op 3 mm boven de bladeren worden objectglaasjes aangebracht, waarna de schalen tenminste 2 uur gesloten worden weggezet. Vervolgens wordt met behulp van de microscoop nagegaan, hoeveel ascosporen er tegen de objectglaasjes werden uitgestoten.

Het is gebleken, dat reeds enige minuten na het bevochtigen met het uitstoten van de sporen wordt begonnen (4). De sterkste uitstoting vindt in het eerste halfuur plaats, terwijl normaliter na 2 uur alle rijpe ascosporen zijn vrijgekomen. Alleen bij sterk uitgedroogde bladeren kan het langer duren. Daarom raadt Jahn aan, de bladeren reeds de avond te voren in een vochtige atmosfeer in het laboratorium te brengen.

*a.* De gang van zaken was in 1947 als volgt:

Doordat de sneeuw lang bleef liggen, konden de benodigde bladeren eerst eind Maart worden verzameld. Dit tijdstip bleek nog vroeg genoeg te zijn.

Naast ander materiaal, werd speciaal gewerkt met bladeren van het appelras Schone van Boskoop, afkomstig uit een boomgaard naast het laboratorium.

Op 31 Maart werd begonnen met dagelijks een twaalftal bladeren te onderzoeken, terwijl tevens enige andere proeven werden ingezet. Op 3 April werden de eerste ascosporen waargenomen.

In de eerstvolgende dagen verliep de uitstoting onregelmatig, hetgeen waarschijnlijk mede veroorzaakt werd door de onregelmatige bezetting van de bladeren met peritheciën. Op 7 en 8 April werden grotere aantallen ascosporen gevonden en na 18 April werden de hoeveelheden belangrijk.

Op grond van de resultaten met deze methode verkregen, werd verondersteld dat de peritheciën op 22 April rijp waren.

*b.* De gang van zaken in 1948:

In dit jaar kon eerder met het onderzoek worden begonnen in verband met de zachte winter. Dit bleek ook noodzakelijk te zijn; op 8 Maart werden nl. bij werken volgens de genoemde methode de eerste ascosporen gevonden.

De hoeveelheden ascosporen bleven de volgende dagen gering en werden slechts langzamerhand groter. Na 20 Maart werden deze aantallen van betekenis en vanaf 27 Maart waren ze heel belangrijk. Er werd dan ook verondersteld, dat de peritheciën eind Maart rijp waren.

Ook dit jaar werd speciaal blad van Schone van Boskoop uit Wageningen, naast bladeren van verschillende andere appelrassen, onderzocht.

Het verloop van de dagelijkse ascosporen uitstotingen in beide jaren, vastgesteld met deze methode, is in de grafiek II door een gebroken lijn aangegeven.

*c. Betrouwbaarheid der resultaten*

Bij het onderzoek van de bladeren volgens de methode der kunstmatige bevochtiging werd steeds met een betrekkelijk klein aantal bladeren gewerkt. Als gevolg hiervan bestaat de kans, dat de gemiddelde indruk, die van de rijpheid der peritheciën wordt verkregen, niet geheel juist is, aangezien deze sterk beïnvloed wordt door afwijkende bladeren.

In de loop der jaren is gebleken, dat de bladeren onderling grote afwijkingen kunnen vertonen. Soms leveren bladeren, die goed met vruchtlichamen zijn bezet, in het begin geen of slechts kleine aantallen ascosporen op, terwijl van andere bladeren reeds in het begin van het onderzoek grote hoeveelheden ascosporen worden uitgestoten. Zoals steeds zal het merendeel van de bladeren een middenweg bewandelen. Er blijken dus grote verschillen tussen de bladeren te bestaan wat betreft het tijdstip van ascosporenproductie. Dit is niet te verwonderen, aangezien een groot aantal factoren invloed uitoefent op de aanleg en rijping van de vruchtlichamen. Deze factoren zijn in een vorige publicatie uitvoerig behandeld (5).

Speciaal in de eerste jaren van het schurftonderzoek werd met een klein aantal bladeren per dag gewerkt, terwijl vaak alleen bladeren van Schone van Boskoop werden gebruikt. Aangezien de factor „ras" een grote invloed uitoefent, is het duidelijk, dat, om een goede indruk te krijgen van de stand van de rijpheid van de peritheciën in de natuur, men niet alleen een minimum aantal bladeren per dag zal moeten onderzoeken, maar tevens zal dit bladmateriaal zo heterogeen mogelijk moeten zijn, d.w.z. de bladeren voor dit onderzoek moeten van verschillende rassen zijn, afkomstig uit alle typen bedrijven en op verschillende plaatsen worden verzameld, theoretisch uit alle delen van het gebied, waarvoor de te geven waarschuwing geldt.

Van der Weele (15) trok dan ook terecht de waarde van deze methode in twijfel, indien er met een klein aantal bladeren werd gewerkt en stelde de vraag hoeveel bladeren er per dag minstens onderzocht moeten worden om een betrouwbare indruk te krijgen van de rijpheid van de peritheciën.

Om dit minimum aantal bladeren vast te stellen werd door Pettinga en de schrijver een oriënterend onderzoek ingesteld. Met behulp van zgn. blancoproeven kan een indruk worden verkregen van de variabiliteit van het te onderzoeken materiaal. De betrouwbaarheid van het gemiddelde is uit te drukken in de middelbare fout van dat gemiddelde. Hoe kleiner deze middelbare fout is, des te betrouwbaarder kan het gemiddelde worden beschouwd.

Naarmate het aantal waarnemingen, waaruit het gemiddelde is berekend, toeneemt, wordt de middelbare fout kleiner.

Aan deze daling is een zekere grens; na verwerking van een bepaald aantal waarnemingen blijkt de middelbare fout een constante waarde te krijgen. Deze grenswaarde wilden we nu door middel van blancoproeven vaststellen.

Het benodigde blad werd op verschillende plaatsen verzameld. Op 9, 11, 19 en 21 April werden grote hoeveelheden bladeren volgens de methode der kunstmatige bevochtiging onderzocht. Voor deze zgn. „massacontrôles" werden resp. 372, 250, 220 en 245 bladeren gebruikt. Het controleren van de sporenaantallen op de

glaasjes was een zeer tijdrovend werk. Voordat de verwerking van de tellingen plaats vond, werd eerst bij elke massaproef het percentage bladeren, waarbij een ascosporenuitstoting werd waargenomen, bepaald.

| Proefdatum | Aantal bladeren | Sporen | Geen sporen |
|---|---|---|---|
| 9 April . . . . . | 372 | 155 (42 %) | 217 (58 %) |
| 11 April . . . . . | 250 | 215 (86 %) | 35 (14 %) |
| 19 April . . . . . | 220 | 164 (75 %) | 56 (25 %) |
| 21 April . . . . . | 245 | 233 (95 %) | 12 ( 5 %) |

Uit deze tabel blijkt, dat het percentage bladeren, dat op de verschillende proefdata ascosporen opleverde, opliep van 42 % tot 95 %.

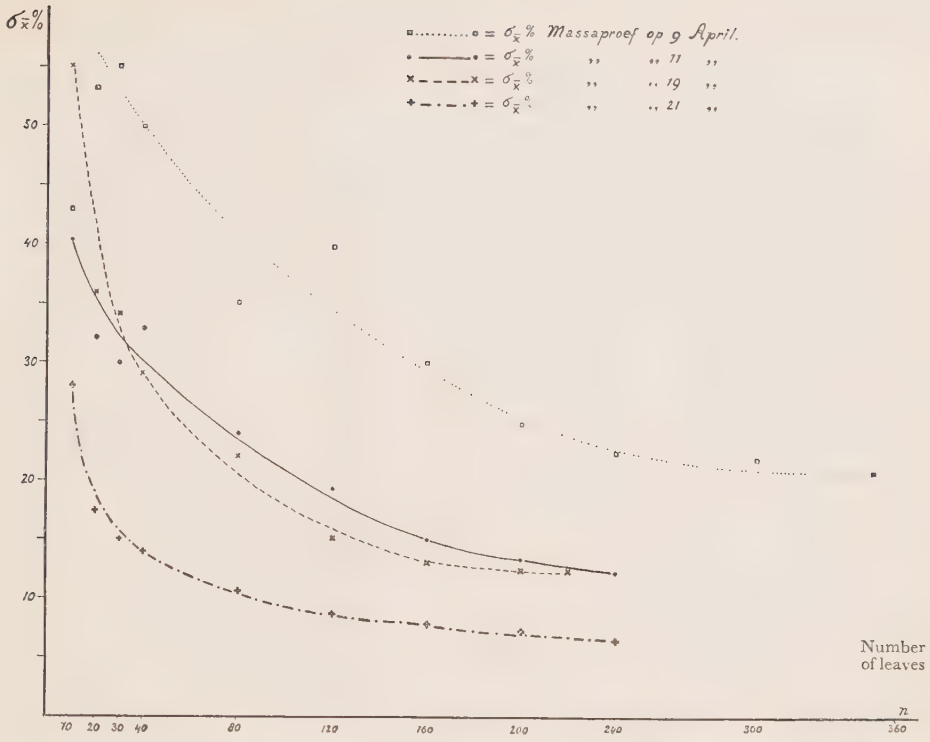
De uitkomsten van de sporentellingen werden verwerkt volgens de methode door Post in enige publicaties aangegeven (11 en 12).

Bij iedere massacontrole werd het gemiddelde en de middelbare fout berekend, behorende bij resp. 10, 20, 30, 40, 80, 120, 160, 200, 240, 300 en 360 bladeren, voor zover de aantallen bladeren van de massacontroles dit toelieten. Tevens werd de waarde van de middelbare fout uitgedrukt in procenten van het gemiddelde, om de middelbare fout onafhankelijk te doen zijn van het gemiddelde ($\sigma_{\bar{x}}$ %).

De resultaten van deze wiskundige bewerkingen werden in een tabel samengevat, die hier echter niet gepubliceerd wordt. Op verzoek zullen deze gegevens echter aan belangstellenden gaarne ter beschikking worden gesteld.

Overzichtelijker was het met behulp van deze resultaten een grafiek samen te stellen, waarin de grootheid $\sigma_{\bar{x}}$ % werd uitgezet tegen het aantal onderzochte bladeren (grafiek 1). Mogen deze waarnemingen (tellingen) echter wel volgens Fisher worden verwerkt? Immers de Fisher-methode mag alleen dan worden toegepast, indien de te verwerken waarnemingen afzonderlijk of in groepen ingedeeld, een ideale frequentie kromme laten zien. En dit is bij deze waarnemingen niet het geval. We zullen de wiskundige kant van deze zaak in dit artikel echter verder laten rusten. De conclusies, welke grafiek 1 laat zien (zie beneden), waren echter van die aard, dat ik meende de grafiek toch te moeten publiceren, zij het dan met de restrictie, dat de manier, waarop de grafiek is ontstaan, mogelijk aanvechtbaar is. Om het doel van de massacontrôles te demonstreren, nl. het aantonen van de onbetrouwbaarheid van de resultaten, indien bij het schurftonderzoek met te weinig bladeren wordt gewerkt, is de grafiek echter goed bruikbaar. Uit het verloop van de lijnen in grafiek 1 blijkt, dat zelfs bij een groot aantal waarnemingen nog een daling van de middelbare fout valt waar te nemen. Verder kan uit de grafiek worden opgemaakt, dat in het begin van het seizoen, als er nog geen of slechts weinig ascosporen vrijkomen, voor de dagelijkse contrôle van de rijpheid der peritheciën volgens de methode der kunstmatige bevochtiging een groot aantal bladeren zal moeten worden gebruikt, liefst zoveel als practisch uitvoerbaar is, wil men niet voor verrassingen komen te staan. Later in het seizoen, als men op een behoorlijke ascosporenproductie kan rekenen, kan men met een kleiner aantal volstaan. Wel dient hierbij te worden opgemerkt, dat de routine, welke de onderzoeker heeft opgedaan bij dit contrôlewerk, eveneens van grote betekenis is.

Tenslotte blijkt bij vergelijking van de uitkomsten van de 4 massacontrôles,




Grafiek I. De daling van de coëfficient van variabiliteit met toenemend aantal bladeven.
*(Diminution of the coefficient of variability in relation to the number of leaves)*

dat er een daling valt waar te nemen van de middelbare fout, naarmate de rijpheid van de peritheciën toeneemt.

### III. HET VRIJKOMEN VAN DE ASCOSPOREN IN DE NATUUR

Evenals in de voorafgaande jaren werd in 1947 en 1948 het verloop van het vrijkomen der ascosporen nagegaan, volgens de gebruikelijke plankjesmethode, die door Van der Pol (9) is beschreven. De resultaten van dit onderzoek zijn in de grafieken II en III aangegeven, resp. voor de appel- en de pereschurft.

De bladeren voor dit onderzoek werden in het voorjaar verzameld. Aangezien alleen bij regenval de ascosporen uit de peritheciën worden vrijgemaakt, werden de contrôles alleen dan verricht, als gedurende het afgelopen etmaal regen was gevallen. Steeds werd de totale hoeveelheid ascosporen per objectglas geteld of bij zeer grote hoeveelheden, geschat. De per contrôle gevonden hoeveelheden ascosporen bij een bepaald object zijn omgerekend in procenten van het totale aantal ascosporen, dat gedurende het seizoen bij dat object is vrijgekomen. Deze procenten zijn in de grafieken aangegeven.

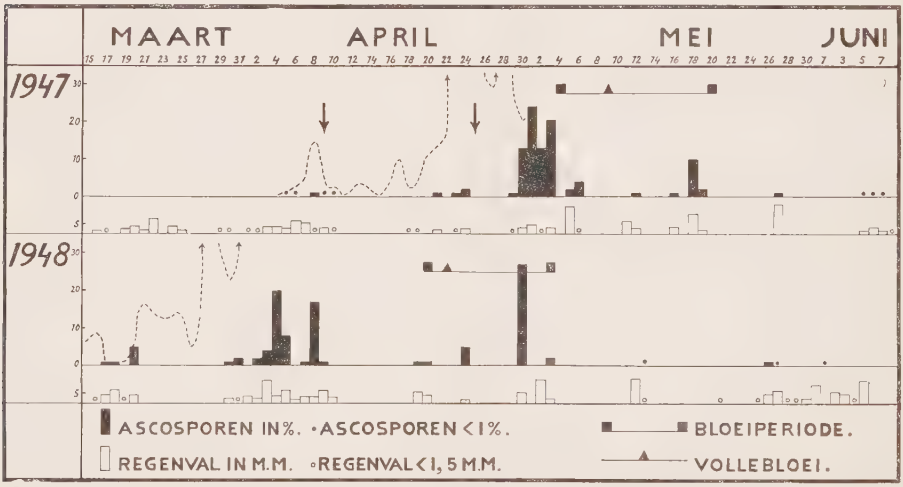
De objecten, waarbij deze gegevens aangaande de ascosporenuitstotingen werden vastgesteld, waren als volgt samengesteld:

1947 *V. inaequalis* uit 16 bladeren van het appelras Schone van Boskoop
*V. pirina* uit 3 bladeren van het pereras Winterjan en
3 bladeren van het pereras Pondspeer

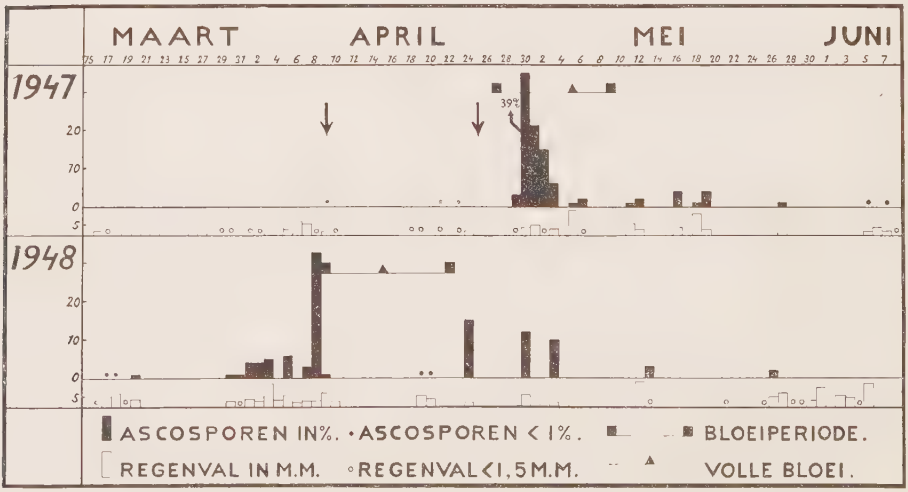
1948 *V. inaequalis* uit 6 bladeren van het appelras Schone van Boskoop en
7 bladeren van diverse appelrassen
*V. pirina* uit 2 bladeren van het pereras Beurré Hardy en
5 bladeren van diverse pererassen.

In de grafieken zijn tevens aangegeven de dagelijkse regenval, waarvan de gegevens door het Lab. van Natuurkunde te Wageningen werden verstrekt, en de bloeigegevens. Deze laatste hebben betrekking op het appelras Schone van Boskoop en de peer Précoce de Trévoux. Tevens is in grafiek A het verloop van de dagelijkse ascosporenuitstotingen aangegeven, bepaald volgens de methode der kunstmatige bevochtiging van appelbladeren in het laboratorium.

Betreffende het verloop van de ascosporenuitstotingen kan nog het volgende worden medegedeeld:




Grafiek II. Ascosporen uitstotingen van V. inaequalis in 1947 en 1948 te Wageningen.
*(Ascospore discharges of V. inaequalis in 1947 and 1948 at Wageningen)*




Grafiek III. Ascosporen uitstotingen van V. pirina in 1947 en 1948 te Wageningen.
*(Ascospore discharges of V. pirina in 1947 and 1948 at Wageningen)*

*a. Verloop van de ascosporenuitstotingen in 1947*

*V. inaequalis:*

Op 5 April kwamen buiten de eerste ascosporen vrij, hetgeen de strenge winter in aanmerking genomen, niet abnormaal laat was. Aangezien het weer koud en regenachtig was, werden bij de volgende contrôles slechts geringe hoeveelheden sporen geteld. Omstreeks 10 April sloeg het weer om in droog voorjaarsweer met een schrale Oostenwind. De temperatuur bleef echter laag, zodat de rijping van de peritheciën niet snel verliep. Bij de regens van 20–24 April werden dan ook weinig ascosporen geregistreerd. Ook de knopontwikkeling van de vruchtbomen werd door het gure weer vertraagd. Toen de temperaturen gingen stijgen en de peritheciën volgens de binnencontrôles rijp waren, werd het wenselijk geacht een tweede waarschuwing te verspreiden, aangezien bij de eerstvolgende regen een hoofduitstoting werd verwacht.

Inderdaad kwamen gedurende de volgende regenperiode van 28 April–4 Mei grote hoeveelheden ascosporen vrij (ruim 75 % van het totale aantal, dat gedurende het seizoen vrijkwam). Deze periode is voor 1947 de kritieke periode geweest voor schurft-infectie.

De eerste waarschuwing werd op 9 April gegeven, toen uit een binnencontrôle op grote schaal (nl. van 375 bladeren) bleek, dat er reeds kans op infectie bestond, indien er reeds te infecteren delen aan de bomen waren.

Dit jaar werd één duidelijke hoofduitstoting geregistreerd. Een tweede, veel kleinere uitstoting kwam in de periode van 15–18 Mei tegen het einde van de bloei der appelbomen.

*V. pirina:*

Het verloop van de ascosporenuitstotingen van *V. pirina* was ongeveer gelijk aan dat bij *V. inaequalis*. Op 9 April werden de eerste ascosporen van de pereschurft waargenomen. De hoofduitstoting viel voor de peren in het begin van de bloei. Gedurende de bloei en daarna werden nog slechts enkele kleine uitstotingen waargenomen.

*b. Verloop van de ascosporenuitstotingen in 1948*

*V. inaequalis:*

Dit jaar werden de eerste ascosporen vroeg gevonden, nl. reeds op 17 Maart. Bij de regens van de volgende dagen kwamen slechts kleine hoeveelheden sporen vrij. Er volgde een periode van droog schraal weer, waardoor de ontwikkeling van de peritheciën, zowel als die van de knoppen der vruchtbomen slechts langzaam verliep. De Plantenziektenkundige Dienst verzorgde dit jaar de berichtgeving. Op 20 Maart werd voor het Zuiden van het land een waarschuwing gegeven. Toen het weer einde Maart zachter werd, wat direct zijn invloed op de peritheciënrijping had, werd op 27 Maart door de P.D. voor het Noorden van het land geadviseerd in de komende periode te gaan spuiten. In de regenperiode van 30 Maart 9 April kwamen geregeld grote hoeveelheden ascosporen vrij. De grootste aantallen werden op 1 t/m 8 April geregistreerd.

Op 4 en 6 April werden geen contrôles verricht.

Aan de verwachting, dat bij de volgende regens belangrijke hoeveelheden ascosporen zouden vrijkomen, werd slechts gedeeltelijk beantwoord. Aangezien

verondersteld werd, dat tijdens de bloei nog veel sporen vrij zouden komen, werd geadviseerd om kort vóór de bloei de tweede bespuiting uit te voeren.

Inderdaad kan de uitstoting op 30 April als een tweede hoofduitstoting worden beschouwd. Deze kwam tegen het einde van de bloei van Schone van Boskoop. Later in het seizoen werden nog slechts kleine uitstotingen geregistreerd.

*V. pirina:*

Van de pereschurft werden eveneens half Maart de eerste kleine hoeveelheden ascosporen waargenomen. Gedurende de regenperiode van 30 Maart–9 April kwamen geregeld ascosporen vrij. Op 8 April werd de hoofduitstoting vastgesteld, juist voor het begin van de bloei van de vroege peren. Ook hier werd verondersteld, dat tijdens de bloei en daarna nog grote hoeveelheden ascosporen zouden vrijkomen. Daarom werd op 19 April door de P.D. voor 't Zuiden geadviseerd direct na de bloei de peren te bespuiten en voor het Noorden van het land zo mogelijk nog vóór de bloei. Inderdaad werden tijdens de regens van 24 en 30 April en op 3 Mei belangrijke uitstotingen geregistreerd.

*c. De waarschuwingsdienst:*

Naarmate het schurftonderzoek vorderde, konden de critieke perioden van ascosporenuitstotingen met meer zekerheid worden aangegeven.

Dergelijke ogenblikken werden via het Lab. voor Mycologie en Aardappelonderzoek (het tegenwoordige Lab. voor Phytopathologie) te Wageningen aan de tuinbouwconsulenten, enige instellingen en aan de vakbladen bekend gemaakt.

Naar aanleiding van deze aanwijzingen namen verschillende consulenten proeven, waarbij de resultaten van de bespuitingen tegen de schurft vóór de bloei volgens de aloude, algemeen toegepaste, knopstadiamethode werden vergeleken met die, welke de zgn. ascosporenmethode opleverde (2). Het bleek, dat de resultaten elkaar niet veel ontliepen, maar ook, dat in bepaalde gevallen de schurftbestrijding volgens de ascosporenmethode beter was.

Toch leverde het invoeren van deze nieuwe methode in de praktijk moeilijkheden op. Een groot bezwaar was o.m. dat de ascosporenuitstotingen vaak slechts enkele dagen van tevoren konden worden voorspeld. Het gevolg hiervan was, dat de fruittelers geen tijd genoeg hadden om hun gehele aanplant te behandelen. Ook kunnen de weersomstandigheden dusdanig zijn, dat er niet kan worden gespoten.

Voor de proefbespuitingen kwamen de waarschuwingen wel op tijd, zodat daarmede gunstige resultaten werden verkregen.

Het voorspellen van de ascosporenuitstotingen is in de loop der jaren verbeterd, mede, doordat de weervoorspelling na de oorlog, speciaal die t.a.v. het weer voor de komende 2 à 3 dagen, verbeterd is.

In 1948 werd op initiatief van Van de Pol (10) een schurftwaarschuwingsdienst opgericht. Aangezien wordt aangenomen, dat de ascosporen in het gehele land ongeveer tegelijkertijd rijp zullen zijn, heeft het bepaalde voordelen de waarschuwingen tegen de schurft vanuit een centraal punt te geven, nl. daar, waar het onderzoek naar het vrijkomen van de ascosporen plaats vindt.

De laatste jaren geschiedt dit door de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen. Of er in een bepaalde streek van het land een ascosporenuitstoting plaats zal hebben, zal, indien de peritheciën rijp zijn, alleen van de regenval ter plaatse afhangen. Om dergelijke uitstotingen te voorspellen is een goede weervoorspelling

en wel speciaal de regenvoorspelling, van zeer grote betekenis. Het is uiteraard van veel belang een overzicht te krijgen van het weer in de naaste toekomst om zodoende te voorkomen, dat spuitwaarschuwingen worden gegeven op ogenblikken, waarop de weersomstandigheden het uitvoeren van bespuitingen onmogelijk maken.

Het K.N.M.I. te De Bilt zorgt er dagelijks voor, dat de P.D. met de weersituatie op de hoogte is.

Aangezien de ontwikkeling van de knoppen der vruchtbomen eveneens een belangrijke factor vormt voor de kans van infectie, moet ook hiermede terdege rekening worden gehouden. Deze knopontwikkeling loopt in de verschillende delen van het land vrij sterk uiteen, zodat het noodzakelijk is tussen bepaalde streken een onderscheid te maken. Om ook centraal een overzicht te krijgen van de knopontwikkeling bij de verschillende appel- en pererassen in het land, worden dergelijke gegevens door een groot aantal ( ± 400) vrijwillige waarnemers, verspreid over het gehele land, verzameld ten behoeve van de Onderafdeling Landbouwmeteorologie van het K.N.M.I. en voor de Studiekring voor Ecologie en Phaenologie. Bij het waarnemen van een bepaald ontwikkelingsstadium wordt dit direct op een hiervoor speciaal samengestelde briefkaart aan het K.N.M.I. bericht.

Deze gegevens worden dagelijks met de weerverwachtingen aan de P.D. doorgegeven, zodat men daar beschikt over:

*a.* het verloop van de peritheciënrijping;
*b.* een overzicht van de knopontwikkeling bij appel en peer in de verschillende delen van het land;
*c.* de weerverwachting, zowel die van het moment als voor de eerstkomende dagen.

Indien het wenselijk wordt geacht een bespuiting uit te voeren, wordt dit in het weerpraatje via de radio medegedeeld. Tegelijkertijd worden de tuinbouwconsulenten, secretarissen van de N.F.C., P.D.-ambtenaren en de pers door middel van stencils op de hoogte gebracht van de stand van zaken.

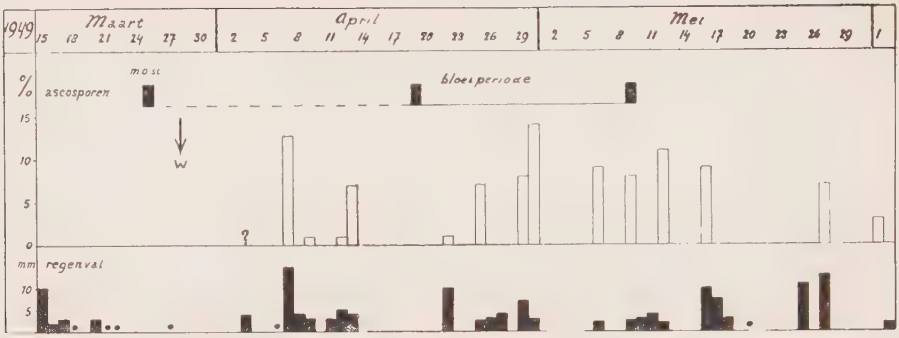
Tevens bestaan er in alle tuinbouwconsulentschappen regionale waarschuwingsdiensten verzorgd door de verschillende organisaties (N.F.O.; L.F.O.; N.C..B. e.d.), waarvan de verantwoordelijkheid bij de consulenten berust. Deze organisaties stellen de fruittelers per briefkaart op de hoogte van de gunstigste tijdstippen voor het uitvoeren van bepaalde bespuitingen. Wat de schurftwaarschuwingen betreft, de P.D.-radiowaarschuwingen worden gedeeltelijk per briefkaart doorgegeven, terwijl daarnaast enige consulenten schurftwaarschuwingen geven volgens eigen inzicht.

## IV. HET SCHURFTJAAR 1949

Het jaar 1949 zal vele fruittelers in het geheugen blijven als een hevig schurftjaar. Ook voor degenen, die zich met het schurftonderzoek hebben bezig gehouden was het een leerzaam jaar. Dit jaar demonstreerde weer eens goed de waarde van de juiste tijdstippen van de bespuitingen vóór de bloei.

Aangezien het schurftonderzoek in 1948 werd beëindigd, heb ik voor dit jaar niet zelf het verloop van de ascosporenuitstotingen kunnen vaststellen. Dr MULDER was echter zo vriendelijk mij zijn gegevens hieromtrent beschikbaar te stellen, waaruit grafiek 4 werd samengesteld.

Deze grafiek laat duidelijk zien, dat reeds vroeg, nl. 7 April, een belangrijke




Grafiek IV. Ascosporen uitstotingen van V. inaequalis in 1949 te Wilhelminadorp.
*(Ascospore-discharges of V. inaequalis in 1949 at Wilhelminadorp)*

ascosporenuitstoting heeft plaats gehad. De fruittelers, welke mede in verband met de vroege knopontwikkeling en naar aanleiding van de waarschuwing op 28 Maart vóór 7 April hadden gespoten, hebben hiervan veel nut gehad. De bespuitingen vóór deze datum hebben de eerste schurftinfecties voorkomen. Wel is uit enquêtes gebleken, dat bespuitingen te lang voor de eerste ascosporenuitstoting uitgevoerd, minder gunstige resultaten opleverden, wat in verband met de snelle knopontwikkeling (dus vergroting van het infecteerbare oppervlak) in die periode duidelijk is. Na 7 April – op sommige plaatsen reeds eerder – was het weer langer dan een week ongeschikt voor het uitvoeren van bespuitingen. Vele fruittelers hebben hierdoor hun eerste bespuiting pas half April uitgevoerd, dus ná een lange critieke periode.

Verder blijkt, dat tijdens de bloei van de bomen en ook daarna nog zeer belangrijke hoeveelheden ascosporen vrij zijn gekomen. Uit het verloop van de uitstotingen volgt duidelijk, dat er over een zeer lange periode infectiegevaar van ascosporen heeft bestaan. Hierbij kwam nog de lange bloeiperiode van de vruchtbomen, speciaal die van de appels. Dit is de oorzaak geweest, dat vele fruittelers eerst laat met de bespuitingen na de bloei zijn begonnen, zodat het tijdsverloop tussen de laatste bespuiting vóór en de eerste bespuiting na de bloei te groot werd. In verband met de ernstige schurftaantasting werd in enige consulentschappen (Kesteren, Barendrecht, Geldermalsen, Maastricht), en ook door de P.D. een enquête op verschillende bedrijven gehouden, waarbij gegevens werden verzameld betreffende de spuitdata, bestrijdingsmiddelen, concentraties en de resultaten van de bestrijding (1 en 14). Uit deze enquêtes kwam eveneens duidelijk naar voren, dat het overgrote deel ( $\pm$ 90 %) van de teleurstellende resultaten in 1949 bij de schurftbestrijding verkregen, verklaard kon worden uit de verkeerde data van de bespuitingen.

Verschillende andere interessante gegevens kwamen aan het licht en het verdient aanbeveling meer van dergelijke enquêtes te houden. Er zijn dus voor de ernstige schurftaantasting 1949 enige oorzaken aan te geven:

*a.* het uitvoeren van bespuitingen vóór de bloei op ongunstige data;
*b.* de lange periode van infectiegevaar;
*c.* de lange bloeiperiode, waardoor er een te groot tijdsverloop was tussen de laatste bespuiting vóór en de eerste na de bloei;
*d.* mogelijke slechte resultaten van de zwavelbespuitingen vlak na de bloei in verband met het koude weer.

## V. BESTRIJDING

Bij de bespreking van de bestrijdingsmogelijkheden zullen twee punten speciaal worden beschouwd, nl. het tijdstip van de bespuitingen en de te gebruiken bestrijdingsmiddelen.

### A. Tijdstip

Zoals bekend ligt het accent van de schurftbestrijding op de bespuitingen vóór de bloei, en wel om hierdoor de eerste infecties te voorkomen.

Indien deze bespuitingen niet op het juiste moment worden uitgevoerd, zullen de resultaten niet bevredigend zijn. Uitbreiding van de ziekte zal men door bespuitingen na de bloei wel enigszins kunnen tegengaan, maar een afdoende bestrijding van de schurftzwam is dan niet meer mogelijk. Misschien zal men met nieuwe bestrijdingsmiddelen iets meer kunnen bereiken.

In hoofdstuk III werd reeds medegedeeld, dat tegenwoordig vrij algemeen rekening wordt gehouden met het vrijkomen van de ascosporen bij het bepalen van de data der bespuitingen vóór de bloei. Daarnaast zal men echter terdege moeten letten op de knopontwikkeling. Begrijpelijk loopt deze in de verschillende delen van het land uiteen, maar ook in eenzelfde streek kunnen door bepaalde omstandigheden (beschutting e.d.) variaties optreden. Met de verschillen in ontwikkeling tussen de rassen wordt met de bespuitingen nog veel te weinig rekening gehouden. Meestal wordt het gehele bedrijf op eenzelfde tijdstip bespoten, zonder op bestaande verschillen te letten.

Sommigen laten de eerste bespuiting geheel van de knopontwikkeling afhangen. Zo geeft Dorsman (1) aan de eerste bespuiting uit te voeren in het muizenoorstadium, tenzij reeds voor dat tijdstip de waarschuwing in verband met de ascosporenontwikkeling wordt gegeven. In dat geval dient men direct na de waarschuwing te spuiten, uiteraard niet op rassen, welke nog geen ontwikkeling vertonen. Verder adviseert hij – afhankelijk van de weersomstandigheden - geen langer tijdsduur dan 5–9 dagen tussen de bespuitingen te laten. Regent het spoedig na een bespuiting, dan dient men direct daarna weer te gaan spuiten. In bepaalde gevallen zal dit advies tot een viertal bespuitingen vóór de bloei aanleiding kunnen geven.

Tevens zal iedere fruitteler voor zijn eigen bedrijf nog met speciale omstandigheden rekening dienen te houden bij het vaststellen van de bespuitingsdata. Vooral de tijd, welke hij nodig heeft om zijn aanplant te behandelen, zal een belangrijke rol spelen.

In een vorige publicatie kwamen Knoppien en Vlasveld (5) tot de conclusie, dat de practijk niet alleen op de ascosporengegevens kan afgaan. Wel kan in bepaalde jaren worden vastgesteld of de ascosporenontwikkeling ten opzichte van de knopontwikkeling vroeg of laat is, waardoor resp. vroeg of laat met de bespuitingen kan worden begonnen. Tegenwoordig wordt ook met deze factoren rekening gehouden in de berichtgeving.

Uit de gehouden enquêtes is mede komen vast te staan, dat men voor de bloei tenminste tweemaal een bespuiting zal moeten uitvoeren. In jaren met een vertraagde bloei zullen twee bespuitingen vaak nog onvoldoende resultaten geven. De weersomstandigheden spelen hierbij tevens een belangrijke rol. Zware regens, speciaal vlak na een bespuiting, zullen het effect van die bespuiting sterk verminderen. De z.g. voorraadsbespuiting, waarbij een betrekkelijk grote hoeveelheid

koper op de bomen werd gebracht, heeft in Nederland niet voldaan en wordt vrijwel niet meer toegepast.

Algemeen wordt aanbevolen vlak voor de bloei de bomen te bespuiten om ze zodoende gedurende de bloeiperiode beschermd te hebben. In 1949 duurde de bloei zo lang, dat de periode tussen de laatste bespuiting voor de bloei en de eerste bespuiting na de bloei te groot bleek. In dergelijke gevallen zal het aanbeveling verdienen tijdens de bloei een bespuiting uit te voeren. Met spuitzwavel is dat goed mogelijk gebleken.

Wat de bespuitingen na de bloei betreft, hiervan zullen de fruittelers zelf de tijdstippen en het aantal moeten bepalen. Verschillende omstandigheden zullen hierop hun invloed uitoefenen o.a. de mate van schurftaantasting, spintbestrijding e.d.

Volgens de Franse onderzoeker DARPOUX ontstaan de secundaire besmettingen (door conidiën) op een te voorspellen tijdstip na de primaire, nl. wanneer de ascosporenvlekken zover zijn ontwikkeld, dat er conidiën worden gevormd (7). Zo onderscheidde hij in 1947 drie van dergelijke secundaire besmettingen. Hiermede wil hij met het bepalen van het tijdstip rekening houden, zij het alleen met de eerste, aangezien de verschillende generaties later in het seizoen te veel dooreen lopen.

De tijdstippen van de bespuitingen voor de bloei zijn dus van het grootste belang. Het zal steeds moeilijk blijven deze goed aan te geven. Achteraf zijn de critieke perioden goed te reconstrueren, maar op het moment zelve is het meestal heel moeilijk te bepalen.

VULLINGS (14) kwam dan ook tot de conclusie, dat het wenselijk is, om vanaf het moment, dat er infecteerbare delen zijn en de ascosporen rijp zijn, deze delen steeds met een fungicide beschermd te houden. Deze tendens viel in 1950 ook bij de radiowaarschuwingen waar te nemen.

### B. BESTRIJDINSMIDDEL

Tot voor enige jaren werden voor de bespuitingen vóór de bloei vrijwel uitsluitend koperbevattende middelen gebruikt. Op kopergevoelige rassen werden de bespuitingen vlak vóór de bloei met zwavelpreparaten uitgevoerd.

Met deze bespuitingen, mits op het juiste ogenblik uitgevoerd, werden goede resultaten verkregen. Een bezwaar van de koperpreparaten is echter, vooral bij koud weer, de kans op bladbeschadiging, terwijl de vruchten er vaak ruw van worden.

Sedert enige jaren zijn kwikpreparaten in de handel gebracht. Hoewel men met deze middelen nog niet zo veel ervaring heeft opgedaan, kan aangenomen worden, dat de schurftwerende werking dezelfde is als die van de koperpreparaten. Ofschoon men omtrent de werkingsduur van kwik nog te weinig gegevens heeft kunnen verzamelen, zijn er gegronde redenen om aan de kwikpreparaten de voorkeur te geven boven de kopermiddelen. Met de kwikbespuitingen kan nl. een betere bladstand worden verkregen, terwijl de kans op ruwe vruchten is uitgesloten.

Voor de bespuitingen na de bloei komen in de eerste plaats de zwavelpreparaten in aanmerking. Naast de bekende Californische pap hebben de spuitzwavels de laatste jaren veel opgang gemaakt. De schurftwerende werking van deze middelen staat gelijk met die van Californische pap, maar met spuitzwavel wordt een

betere bladstand verkregen. Een ander voordeel is de mogelijkheid van het mengen van spuitzwavel met HCH en loodarsenaat. Een nadeel is echter de veel geringere spintdoding. Daarom wordt vaak een gecombineerde Californische papspuitzwavelbespuiting toegepast.

Ook kwikpreparaten kan men na de bloei verspuiten, hoewel hierbij enige restricties dienen te worden toegepast. Op peren moet kwik na de bloei worden ontraden, terwijl ook enige gevoelige appelrassen, zoals Cox-typen en de Transparante de Croncels niet voor de kwikbespuitingen in aanmerking komen.

De zwavelgevoelige zoete appelrassen kunnen echter bij voorkeur met kwik worden bespoten.

Een voordeel van de kwikpreparaten is nog dat er een genezende werking van uitgaat. Bij een sterke schurftaantasting kan echter geen kwik meer worden verspoten, aangezien een zware bladval het gevolg kan zijn.

Van de verschillende nieuwe middelen, die de laatste tijd in de handel zijn gekomen kunnen nog de TMTD-preparaten (werkzame stof: tetramethylthiumramdisulfide) en de carbamaten worden genoemd.

De werking van TMTD tegen de schurft is minder krachtig, maar deze preparaten hebben een gunstige invloed op de bladstand en de kleur van de vruchten. Van de carbamaten zijn enige middelen voor de schurftbestrijding geschikt. Men onderscheidt zink- en ijzercarbamaten. Aangezien er met deze middelen nog slechts weinig ervaring is opgedaan, zal hierop niet verder worden ingegaan.

Zowel in het binnen- als buitenland worden talrijke nieuwe middelen tegen de schurftziekte beproefd. Zo bleek in de Ver. Staten een extract van een *Streptomyces*-soort een zodanige antibiotische werking te bezitten, dat de groei van de schurftzwam zelfs in een zeer sterke verdunning geheel werd verhinderd.

## VI. NABESCHOUWING

In 1948 werd het schurftonderzoek te Wageningen, dat op initiatief van Prof. Quanjer in 1938 werd begonnen, beëindigd. Sedertdien gaat de Plantenziektenkundige Dienst het verloop van de ascosporenuitstotingen in het voorjaar na en geeft op grond daarvan de waarschuwingen. Het onderzoek heeft in de loop der jaren veel aan het licht gebracht en we mogen Prof. Quanjer dankbaar zijn, dat hij op de grote betekenis van de ontwikkeling van de schurftzwam voor de bestrijding heeft gewezen.

Wel is in de praktijk gebleken, dat men niet, zoals oorspronkelijk werd gedacht, alleen op de ontwikkeling van de parasiet kan afgaan. Zoals in het voorafgaande is beschreven, wordt thans ook met verschillende andere factoren rekening gehouden. De grote betekenis van het verloop van de ascosporenuitstotingen is men steeds meer in gaan zien en speciaal in 1949 kwam goed tot uiting, dat het mogelijk is om schurftvrij fruit te kweken, indien de bespuitingen op de juiste tijdstippen worden uitgevoerd. Achteraf zijn deze critieke ogenblikken meestal goed te achterhalen, maar op het moment zelve zal het steeds weer opnieuw moeilijk zijn om ze precies aan te geven.

Verschillende problemen zullen nog moeten worden opgelost. Speciaal omtrent de infectievoorwaarden en -omstandigheden is nog te weinig bekend.

Sproston (13) heeft hieromtrent een onderzoek ingesteld en geeft in een grafiek het verband aan tussen de tijdsduur van onafgebroken vochtigheid der bladeren, de gemiddelde dagtemperatuur en de ernst van de infectie. Volgens hem zou de

minimale duur der vochtigheid, nodig om infectie te veroorzaken, bij 5,5° C minstens 24 uur moeten bedragen en bij 16° C 9 uur.

Nog te weinig aandacht is aan deze materie besteed (6), meer kennis hierover zou wellicht enige onduidelijkheden inzake de schurftaantasting kunnen ophelderen. Ook vragen betreffende de werking en de werkingsduur van de bestrijdingsmiddelen, speciaal van de nieuwere, kunnen nog niet voldoende worden beantwoord. Eveneens is de regenbestendigheid onvoldoende bekend. Ook de werking, b.v. van de kwikpreparaten, in en kort na de incubatietijd dient nader te worden bestudeerd. Meer gegevens omtrent deze problemen zullen voor de schurftbestrijding van het grootste belang zijn.

Het houden van enquêtes kan in de loop der jaren eveneens belangrijke resultaten opleveren. Door het noteren van de spuitdata, weersomstandigheden e.d. zal een steeds beter beeld gevormd kunnen worden van de critieke perioden. De practijk ziet hiervan ook het belang in en iedere goede fruitteler rekent het tot zijn taak dergelijke gegevens zo nauwkeurig mogelijk te noteren.

Hoewel er dus nog verschillende problemen bij de schurftbestrijding niet zijn opgelost, mag aangenomen worden, dat de praktijk van de resultaten van dit onderzoek reeds veel heeft geprofiteerd. De radiowaarschuwingen, zowel als de regionale waarschuwingen, mogen zich dan ook in een grote belangstelling verheugen.

## VII. SAMENVATTING

1. Evenals in de voorafgaande jaren werden in 1947 en 1948 te Wageningen de ascosporen-uitstotingen in de natuur voorspeld met behulp van de zgn. methode der kunstmatige bevochtiging. Het aldus gevonden verloop van de peritheciënrijping bij *V. inaequalis* is door een gebroken lijn in grafiek II aangegeven. Bij dit onderzoek bleek steeds een grote variabiliteit te bestaan in het tijdstip van rijping der ascosporen tussen de gebruikte bladeren onderling. Daarom werd in 1947 een onderzoek ingesteld naar het minimum aantal bladeren, dat per dag moet worden onderzocht om wiskundig betrouwbare resultaten te krijgen. Dit geschiedde door middel van zgn. blancoproeven.

Op 9, 11, 19 en 21 April werden grote aantallen bladeren op hun ascosporenuitstotingen gecontroleerd. De tellingen van deze ascosporenhoeveelheden werden wiskundig verwerkt. In grafiek I werd $\sigma_{\bar{x}}$ % uitgezet tegen het aantal onderzochte bladeren.

Uit het verloop van de lijnen valt op te maken, dat zelfs bij de grote aantallen bladeren welke werden onderzocht, de middelbare fout nog geen constante waarde heeft aangenomen. De conclusie uit dit onderzoek is, dat er vooral in het begin van het seizoen, wanneer nog slechts weinig peritheciën rijpe ascosporen bevatten, er per dag een groter aantal bladeren zal moeten worden onderzocht om een indruk te verkrijgen van de algemene peritheciënrijping, dan voorheen het geval was, wil men verrassingen uitsluiten. In de loop van het seizoen kan dit aantal bladeren geleidelijk worden verminderd.

2. Het verloop van de ascosporenuitstotingen zoals dit in de natuur te Wageningen heeft plaats gevonden in 1947 en 1948 werd volgens de zgn. plankjesmethode vastgesteld en in de grafieken II en III, resp. voor *V. inaequalis* en *V. pirina* aangegeven.

In grafiek IV is het verloop van de ascosporenuitstotingen in 1949 aangegeven, vastgesteld in Wilhelminadorp door Dr MULDER.

3. Werden in de eerste jaren van het onderzoek de waarschuwingen betreffende de schurftbestrijding via het Lab. voor Mycologie en Aardappelonderzoek verspreid, in 1948 werd dit werk door de P.D. overgenomen.

Bij het geven van de waarschuwingen wordt rekening gehouden met het vrijkomen van de ascosporen, met de knopontwikkeling van de fruitbomen en met de weersomstandigheden, zowel die van het moment als die in de komende periode.

Deze waarschuwingen worden o.m. per radio verspreid. Daarbij wordt aangenomen dat de ascosporenrijping in geheel Nederland tegelijkertijd verloopt. De knopontwikkeling verschilt streeksgewijs, soms plaatselijk ook nog. Hierdoor kunnen de radiowaarschuwingen voor sommige gebieden moeilijkheden opleveren.

4. De oorzaken van het hevige optreden van de schurft in 1949 werden besproken. Naast de gewone factoren, was de zeer langgerekte bloeiperiode in dit jaar van grote invloed. Hierdoor kwam er een te grote tijdsperiode te liggen tussen de laatste bespuiting voor en de eerste na de bloei.

In sommige jaren zal het noodzakelijk zijn tijdens de bloei te spuiten. Zwavelpreparaten, speciaal spuitzwavels, komen daarvoor in aanmerking.

5. Bij de bestrijding van de schurftziekte spelen zowel de tijdstippen als de middelen een belangrijke rol. Tegenwoordig wordt vrij algemeen rekening gehouden met het vrijkomen van de ascosporen voor het vaststellen van de bespuitingen.

Wegens het ontbreken van een goede regenvoorspelling op langere termijn kan men zich daar niet geheel naar richten. Sommige geven er de voorkeur aan, om te infecteren delen steeds onder een bestrijdingsmiddel te houden en na regen direct weer te gaan spuiten. Deze methode kan aanleiding geven tot 4 soms 5 bespuitingen voor de bloei.

Wat de middelen betreft, voor de bloei worden vnl. kwik- en koperbevattende middelen verspoten. Hoewel kwik mogelijk een iets geringere werking op de schurft heeft, worden kwikpreparaten steeds meer gebruikt in verband met de voordelen welke ze bieden (gladde vruchten, mooie bladstand). Bij voldoende temperatuur kunnen ook zwavelpreparaten worden verspoten. Na de bloei spelen de zwavelpreparaten de belangrijkste rol. Wegens zijn goede eigenschappen wordt spuitzwavel steeds meer verspoten. Op zoete appelrassen verdienen de kwikpreparaten de voorkeur.

De dure TMTD-preparaten hebben een geringere schurftwerende werking. Ze geven echter een mooie bladstand en kunnen de vruchten een mooie kleur geven, vandaar dat ze speciaal voor de laatste bespuitingen voor de oogst kunnen worden aanbevolen.

6. Het schurftonderzoek, dat in 1938 op initiatief van prof. QUANJER te Wageningen werd begonnen, werd in 1948 beëindigd. Het doel van dit onderzoek was het principe van KEITT en JONES - nl. de bespuitingen voor de bloei te richten naar de zwamontwikkeling, i.p.v. naar de ontwikkeling van de bomen – voor Nederland te toetsen. Het is gebleken, dat men niet, zoals oorspronkelijk werd gedacht, zich geheel naar de ontwikkeling van de schurftzwam kan richten. Wel dient men daarmee met het bepalen van de tijdstippen der bespuitingen rekening te houden.

Dat dit thans algemeen wordt gedaan, blijkt wel uit het feit, dat de begrippen „ascosporen" en „peritheciën" zijn ingeburgerd.

7. Verschillende problemen welke met de schurftziekte samenhangen, zullen nog nader moeten worden beschouwd, o.a. de omstandigheden, welke de infectie

bepalen. Schurftenquêtes in 1949 in enige consulentschappen gehouden, dragen eveneens bij tot oplossing van bepaalde problemen. Het verdient aanbeveling dergelijke enquêtes voort te zetten.

## VIII. SUMMARY

1°. As in previous years, natural ascospore discharges were forecasted in 1947 and 1948 by examining daily a number of artificially moistened apple leaves. The progress of maturation of the perithecia of *V. inaequalis*, found in this way, is shown in diagram II by a broken line. The investigations in previous years had shown that there was great variation in the time at which the perithecia on the leaves matured. In 1947, therefore, more exact observations were made to determine the numbers of leaves which ought to be examined daily by the method of artificial moistening if reliable data on maturity of the perithecia were to be obtained.

The tests were done in the following way. On April the 9th, 11th, 19th and 21st large numbers of apple leaves, taken from different orchards, were moistened. After two hours the numbers of ascospores discharged on to slides placed 3 mm. above the leaves were counted with the aid of a microscope. The data obtained were examined statistically and in diagram I the standard errors of individual observations as percentages of the mean are plotted against the numbers of leaves examined. It is obvious from the curves that even with the large numbers of leaves used, the mean error has not reached a constant value. From these investigations it may be concluded that, especially early in the season when only a few perithecia contain mature ascospores, larger numbers of leaves per day will have to be examined than has previously been done if a reliable insight is to be gained into the general maturation of the perithecia. As the season advances the number of leaves examined may be gradually reduced.

2°. Diagrams II and III show the character of ascospore discharges of *V. inaequalis* and *V. pirina* respectively, during the springs of 1947 and 1948 at Wageningen. Diagram IV shows the ascospore discharges of *V. inaequalis* in 1949 at Wilhelminadorp, found bij Dr MULDER.

3°. In the first years of this research on apple scab spray warnings were issued from the Laboratory of Mycology at Wageningen, but in 1948 this work was taken over by the Phytopathological Service. The warnings are now based on development of the fungus (as determined by ascospore discharges), on development of the tree-buds, and on the weather forecasts. They are issued by radio, as well as in other ways. It is assumed that ascospore discharge occurs about the same time over the whole of the Netherlands, but it is known that bud development varies from district to district and even locally. As a result of this the radio warnings may give rise to difficulties in some areas.

4°. The causes of the severe attack of scab in 1949 are discussed. In addition to the usual ones, such as bad timing of spray applications, many unsatisfactory results were due to the very prolonged period of flowering. Owing to this, the period between the last pre-blossom spray and the first post-blossom spray was too long. In years with very prolonged flowering it seems that it will be necessary to treat the trees during the blossoming period. For this application sulphur compounds, especially wettable sulphur, may be used.

5°. The timing of spray applications and the fungicides to be used are both

very important in scab control. The times of ascospore discharges are now generally taken into consideration in fixing the times of pre-blossom sprays. Because of the lack of reliable long-term weather forecasts, it is not possible to be guided by rainfall forecasts alone. Some growers prefer to keep the susceptible parts of the trees covered with a fungicide during the period of ascospore discharges, giving further applications of spray at once after heavy rainfall. In this way, four or even five applications may be given before and sometimes one of them during the blossoming.

For the pre-blossom sprays copper and mercury compounds are used. It may be that the mercury compounds have a somewhat weaker fungicidal action, but they are becoming more widely used on account of certain advantages they possess (giving smooth fruits and better foliage). When temperatures are high enough, sulphur compounds may also be used; indeed, after flowering, they are the most important fungicides, especially in the form of wettable sulphur. Owing to the sensitivity of the leaves of sweet apple varieties to sulphur, however, these varieties are usually sprayed during the whole of the summer with weak solutions of mercury compounds.

The expensive TMTD compounds have a weaker fungicidal action than the other sprays, but they give a very fine foliage and well coloured fruits. They may therefore be recommended for the last two or three applications before picking.

6°. Research on apple scab was started at Wageningen in 1938 on the initiative of Prof. QUANJER and was concluded in 1948. The aim of this research was to test the method of KEITT and JONES, who based the timing of pre-blossom sprays on fungus development instead of on bud development. It was found that neither fungus development nor bud development alone may be considered a reliable basis for spray timing, but that both must be taken into consideration, as well as the weather forecast.

7°. There are a number of problems relating to scab disease in need of further investigation, e.g. the conditions favouring infection. Field surveys on the development of scab were carried out in 1949 in several districts and contributed to the solution of certain problems. The continuation of surveys of this kind is to be recommended.

## IX. LITERATUUR


1. DORSMAN, C., Schurftonderzoek in het R.T.C. Kesteren. Bet. Tuinb.blad 8: 1, 1950.
2. GERSONS, L., Onderzoek naar de beste tijdstippen der voorjaarsbespuiting tegen appel- en pereschurft II. T. o. Pl.ziekten 48: 33–40, 1942.
3. HUS, P., Schurftbestrijding. De Fruitteelt 39: 1010–1011, 1949.
4. JAHN, E., Untersuchungen zur Vorherbestimmung des ersten Spritztermines beim Apfelschorf. Zeitschr. angew. Bot. 25: 55–78, 1943.
5. KNOPPIEN, P. en VLASVELD, W. P. N., Vier jaren voortgezet onderzoek over de schurft van appel en peer. T. o. Pl.ziekten 53: 145–180, 1947.
6. MULDER, D., Schurftbestrijding in Nederland en in de Ver. Staten van N.-Amerika. Med. Dir. Tuinb. 12: 890–892, 1949.
7. ———, Schurftbestrijding in Theorie en Praktijk in Frankrijk. Med. Dir. Tuinb. 12: 892–894, 1949.
8. PETTINGA, J. J., Schurftonderzoek 1947. Niet gepubliceerd verslag.

9. Pol, P. H. van de, Onderzoek naar de beste tijdstippen der voorjaarsbespuiting tegen de appel- en pereschurft I. T. o. Pl.ziekten 47: 197–230, 1941.
10. ———, De Schurftwaarschuwingsdienst. De Fruitteelt 38: 228–229, 1948.
11. Post, J. J., Twee blanco proeven bij tomaten. Med. Dir. Tuinb. 9: 468–474, 1946.
12. ——— , Handleiding bij de opzet en verwerking van Fisherproeven-1947.
13. Sproston, Th., Vermont apple scab and control 1947–1948. Agric. Exp. St. Bull. 550, Burlington, Vermont.
14. Vullings, W. P., Resultaten van de schurftbestrijding in Limburg in 1949. Med. Dir. Tuinb. 13: 212–217, 1950.
15. Weele, S. v. d., Schurftonderzoek 1946. Niet gepubliceerd verslag.

## KORTE MEDEDELINGEN

### VALSE MEELDAUW (*PERONOSPORA PULVERACEA* FUCKEL) OP *HELLEBORUS NIGER*[1])

*Mit Zusammenfassung: Peronospora pulveracea Fuckel auf Helleborus niger*

DOOR

J. A. von Arx[2]) en D. Noordam[3])

De Helleborus-cultuur heeft veel te lijden van valse meeldauw, *Peronospora pulveracea* Fuckel. Het is bekend, dat deze schimmel in de planten een overjarig mycelium bezit, dat de gehele plant doorgroeit en in het rhizoom en in de jonge knopaanleg overwintert. Klebahn (1925) heeft de myceliumgroei in rhizoom, vegetatiepunt, bladstelen en bladeren van de plant beschreven. Bij het uitlopen van de planten in het voorjaar zijn de ziekteverschijnselen zeer opvallend. De ziek uitgroeiende bladeren blijven klein, zijn dikwijls naar onderen toe opgerold, en hebben een grijsgroene tint. Later zijn in het grijsgroen, grauwbruine vlekken te zien van ongeveer $\frac{1}{2}$ mm doorsnee, die zich op de fijnere nerven bevinden (zie afb. 1).

Op de onderzijde der bladeren komen vanaf eind April via de huidmondjes vertakte conidiëndragers naar buiten en vormen sporen.

Opvallend is, dat van *Helleborus niger* het ras „Buis" in sterke mate door deze ziekte wordt aangetast, terwijl het ras „Keessen" slechts zeer weinig van de schimmel heeft te lijden.

Het is de kwekers van *Helleborus* bekend, dat men bij het forceren de zieke planten dikwijls reeds kan herkennen, doordat ze vroeger bloeien dan de gezonde en reeds tijdens de bloei bladeren vormen. Zo vonden wij in December 1949, bij planten die geforceerd werden, talrijke exemplaren die deze verschijnselen vertoonden en die dan ook door de schimmel aangetast waren (zie afb. 2). De zieke planten zijn reeds uitgebloeid, als de gezonde nog dichte knoppen hebben. De bladeren van de zieke planten zijn kleiner dan normaal en misvormd. De misvorming bestaat uit een onregelmatig samenkrullen, en een golving van de bladranden.

[1]) Ontvangen voor publicatie 28 Juni 1950.
[2]) Phytopathologisch Lab. Willie Commelin Scholten, Baarn.
[3]) Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen; gedetacheerd bij het Proefstation voor Bloementeelt te Aalsmeer.

Ook de bloembladeren zijn kleiner en dikwijls aan de rand onregelmatig gekromd, en bovendien zijn zij niet wit, maar meer of minder grijs- of olijfbruin verkleurd. Deze verkleuring komt door streepvormige, de nerven volgende en zich met deze vertakkende, bruine plekjes. Deze plekjes bevinden zich meer of minder talrijk eerst vooral op de buitenste, maar later ook op de binnenste bloembladeren. Jonge bloemen zijn nog bijna wit en worden met toenemende ouderdom donkerder. Vaak zijn slechts de middelste en buitenste delen der bloembladeren verkleurd, terwijl deze aan de basis min of meer wit blijven.

Wij hebben doorsneden gemaakt door de verkleurde delen van de bloembladeren. Deze toonden aan, dat de verkleuring veroorzaakt wordt door de hyphen, die in het mesophyl talrijk aanwezig zijn. Zij groeien voornamelijk intercellulair, en duwen de cellen, die zij vaak meer of minder deformeren en vernietigen opzij. De hyphen zijn goed ontwikkeld; zij zijn 8–16 $\mu$ dik, meestal zeer onregelmatig, vaak met knobbelige verdikkingen en bevatten een korrelig plasma. In jonge toestand zijn zij bijna hyalien, maar zij krijgen spoedig een olijf- of roodbruine kleur. De hyphen die de vaten volgen, hebben wanden van ca 1 $\mu$ dikte. Vaak verdichten die hyphen zich en vormen dan rondachtige of langwerpige, onregelmatige dooreengevlochten kluwens; daar omheen zijn dan de mesophylcellen bijna volledig verwoest. Zelden groeien de hyphen intracellulair; zij dringen dan door een kleine zelfgemaakte porus naar binnen, groeien verder langs de wanden, buigen aan het einde van het cellumen om en vullen dit tenslotte geheel op (zie fig. 1).

Wij hebben ons afgevraagd hoe *Peronospora pulveracea* in de bloemen terecht komt, en hebben daarom de stengels onderzocht. Van buiten zagen zij er gezond uit en lieten geen verkleuring zien. Maar zowel op overlangse als dwarse doorsneden kon de schimmel in het stengelweefsel, vooral in de buurt van de vaten, aangetoond worden. Een bruinkleuring van de hyphen, zoals wij die in de bloembladeren zagen, konden wij hier niet waarnemen.

Nog sterker dan de bloembladeren zijn vaak de zich aan de bloemstengel be-

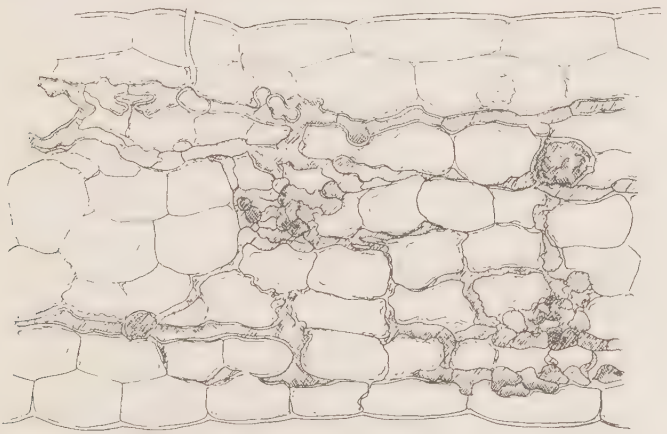


Fig. 1. Doorsnede door het bloembladweefsel van *Helleborus niger* met mycelium van *Peronospora pulveracea*. Vergroting 180 ×.
*Schnitt durch das Gewebe eines von Peronospora pulveracea durchwucherten Blütenblattes von Helleborus niger*

vindende bracteolen aangetast; bij sommige planten waren deze geheel bruin en sterk misvormd.

Opvallend is, dat het mycelium in de bloembladeren bruin gekleurd is, terwijl het in de stengels hyalien blijft. Het is waarschijnlijk, dat deze bruinkleuring een gevolg is van het sterker bloot gesteld zijn aan uitwendige omstandigheden (b.v. licht).

Door de kwekers wordt de ziekte uitsluitend bestreden door „ziek zoeken", d.w.z. de zieke planten, die men op de bedden vindt, worden verzameld en weggegooid. Dit lijkt, gezien de levenswijze van de schimmel, voorlopig wel de enig juiste bestrijdingsmethode. In de literatuur (o.a. Anonym, 1919) wordt daarentegen als bestrijdingsmiddel aangegeven bespuiten met Bordeauxse pap $1\frac{1}{2}$ %; deze bespuiting zou de ontwikkeling van de zwam sterk tegenhouden. Op het Proefstation voor Bloementeelt te Aalsmeer hebben wij (Noordam 1947) op zieke planten een bespuiting met Bordeauxse pap uitgevoerd; in Juli 1946 werden planten, aangetast door *Peronospora pulveracea*, uitgeplant. Het volgend voorjaar vertoonden 28 van de 38 planten duidelijk ziekteverschijnselen. Herhaalde malen bespuiten met Bordeauxse pap $1\frac{1}{2}$ % gaf geen verbetering bij de zieke planten. Dit was ook niet anders te verwachten, daar het mycelium zich inwendig in de plant bevindt en deze geheel doorgroeit.

Over preventieve behandeling met Bordeauxse pap, ter voorkoming van nieuwe infectie door conidiosporen, zal nog onderzoek verricht worden. Dat de volgroeide bladeren door sporen geïnfecteerd worden, is waarschijnlijk niet mogelijk, maar in ieder geval bestaat de kans van infectie van jonge bladeren en knoppen. Hier zou misschien bespuiten nuttig kunnen zijn.

Dat de besmetting door de grond zal plaats vinden, lijkt onwaarschijnlijk daar men in de practijk dikwijls gezonde en zieke planten naast elkaar aantreft. Het komt zelfs voor, dat van twee tegen elkaar aangepootte planten de éne ziek en de andere gezond is. Verder dient men in aanmerking te nemen, dat *Peronospora pulveracea* een obligate parasiet is en daardoor in de grond zich niet van plant tot plant kan uitbreiden door middel van mycelium.


ZUSAMMENFASSUNG

Von *Peronospora pulveracea* Fuck. befallene *Helleborus niger*-Pflanzen sind beim Trieb in Warmhäusern durch frühere Blüte und durch die um diese Zeit bereits erscheinenden Blätter von gesunden zu unterscheiden. Die Blütenblätter bleiben klein und sind durch das in ihnen wuchernde Pilzmyzel unansehnlich graubraun verfärbt.

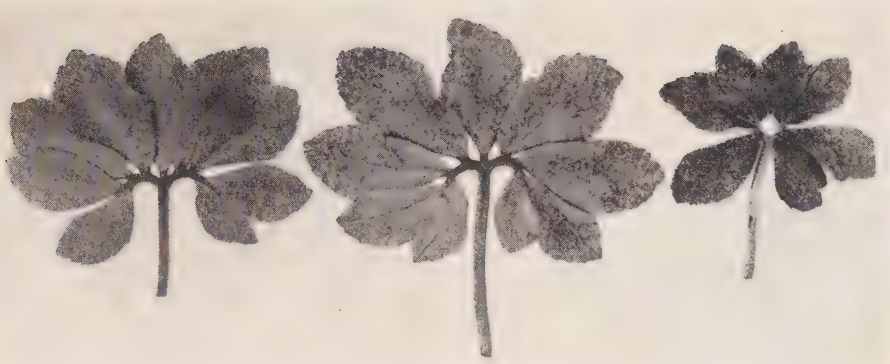
Von *Peronospora pulveracea* befallene Pflanzen, die zu wiederholten Malen mit Bordeaux-Brühe bespritzt worden waren, blieben krank, sodass die früher wohl empfohlenen Bespritzungen mit dieser Brühe zur Bekämpfung der Krankheit überflüssig sind. Zur Verhütung des Befalls ist Bordeaux-Brühe vielleicht wohl verwendbar, vorausgesetzt dass man sorgt, dass besonders die jungen Blätter und Knospen genügend gegen Infektion geschützt werden.


LITERATUUR


Anonym, Verslag over de werkzaamheden van de Phytopathologische Dienst Wageningen, 25, 1919.

Klebahn, H., Zeitschr. für Pflanzenkr. 35: 15–22, 1925.

Noordam, D., Jaarverslag Proeftuin Aalsmeer: 54, 1947.



Afb. 1. Bladeren van *Helleborus niger*. Twee rechts zijn aangetast door *Peronospora pulveracea* en zijn dientengevolge grijsgroen met bruine plekjes. Links een blad van een gezonde plant (foto Proefstation Bloementeelt, Aalsmeer).
*Blätter von Helleborus niger. Dasjenige links ist gesund, die beiden rechts sind von Peronospora pulveracea befallen und in der Folge graugrün verfärbt und braunfleckig.*

Afb. 2. Tot bloei geforceerde, zieke plant. De bloembladeren hebben streepvormige, bruine plekjes (middelste bloem nog zonder ziekteverschijnselen); de bladeren zijn reeds tijdens de bloei aanwezig (foto Proefstation Bloementeelt, Aalsmeer).
*Unter Glas getriebene, kranke Pflanze. Durch das intramatrikal wuchernde Pilzmycel sind die Blütenblätter unansehnlich graubraun gefleckt. Die Blätter haben, im Gegensatz zu gesunden Pflanzen, schon während der Blüte ausgetrieben; ihre Stiele sind abnormal lang.*

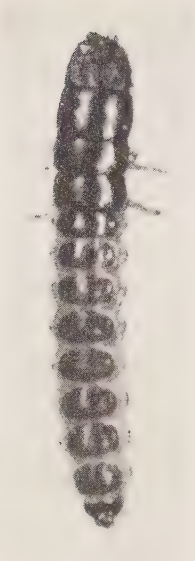


Fig. 1. Larve van de graanloopkever
*(Zabrus tenebrioides* Goeze*)*

Foto Plantenziektenkundige Dienst

Foto
Plantenziektenkundige Dienst

Fig. 2. Door de graanloopkever beschadigde kiemplanten

# DE GRAANLOOPKEVER (*ZABRUS TENEBRIOIDES* GOEZE) [1])

DOOR

N. J. HENDRIX

Hoofdassistent bij de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst, Roermond

De graanloopkever komt voor in diluviale streken; in ons land wordt hij uitsluitend in Zuid-Limburg waargenomen. Reeds in 1890 werd de eerste kever gevonden onder de gemeente Beek en enkele jaren later vond men onder de gemeente Schimmert ook een exemplaar. Bedoelde kevers zijn heden nog aanwezig in het Natuurhistorisch Museum te Maastricht.

De graanloopkever is 1½ cm lang, zwart metaalglanzend, de onderzijde is dof zwart, sprieten, schenen en tarsen zijn bruinrood. De kever verschijnt ± half Juni tot begin Juli. Overdag houdt hij zich verscholen in spleten of onder stenen, maar nooit dieper dan de bouwvoor. 's Nachts gaat hij op pad om voedsel te zoeken en zich voort te planten (paren). De jonge kevers voeden zich het liefst met de melkrijpe roggekorrel. Zodra de avond valt, treft men op de roggevelden kevers die langs de halmen omhoog kruipen om zich te goed te goen aan de rogge-aren.

*Voortplanting*

De witte, enigszins doorzichtige eieren worden afgezet vanaf eind Juli tot laat in de herfst; zij worden in de grond gelegd op een diepte van enkele centimeters, in de regel ten getale van 3–5 bij elkaar. Na 9 tot 12 dagen komen uit deze eieren de jonge larven. Deze zijn grijswit met donkere kop, drie paar borstpoten en iets afgeplat lichaam. Zij schuwen het daglicht en bevinden zich overdag in de grond, waar zij leven in rechte verticale kanaaltjes van 20–30 cm diepte en 2,5 tot 5 mm doorsnee. In het eerste ontwikkelingsstadium voeden de larven zich met plantenworteltjes. Later komen ze des nachts of ook wel bij donker weer overdag naar boven om voedsel op te nemen. Bij mooi zonnig weer leven ze overdag teruggetrokken in de kanaaltjes. Als de larven volgroeid zijn, hebben ze een lengte van 2–2,5 cm. Ze gaan in Mei over in het popstadium. Na 3–6 weken poptoestand, afhankelijk van het weer, komt de kever uit de grond.

De graanloopkever is een loop- en roofkever, waarvan de larve de grootste schade aanricht bij rogge. Ook wintertarwe, wintergerst en grassen worden aangetast. Zomertarwe en zomergerst worden eveneens beschadigd; haver practisch niet. De sterkste aantastingen treft men aan bij de verbouw van rogge ná rogge. Indien de rogge gemaaid is, bevinden zich vele kevers in de hokken, waaronder in de grond de eieren worden afgezet. Indien men in herfst of winter een aantasting van de graanloopkever aantreft en deze gaat uit van het midden der percelen, dan kan men gerust aannemen, dat op zulk een perceel rogge op rogge verbouwd werd. In de regel begint de aantasting echter bij de randen en gaat vandaar verder het veld in. Gaat de aantasting uit van een buurperceel, dan staat het vast, dat op dit buurperceel rogge heeft gestaan en in de meeste gevallen rogge ná rogge. De aantastingen gaan dus uit van percelen, waar het vorig gewas rogge is geweest. De verklaring ligt hierin: Zo gauw een kever, die zich in een tarwe- of gerstperceel heeft ontwikkeld, de grond verlaat, zoekt hij een roggeveld op om

[1]) Ontvangen voor publicatie 23 Juni 1950.

aan de melkrijpe roggekorrel te „zuigen". De graanloopkever geeft de voorkeur aan rogge. Dit gewas is vroeger melkrijp dan tarwe; het is mogelijk, dat de kevers daarom het eerst de roggepercelen opzoeken en daar dan blijven.

*Schade*

Als regel is de door de larven aangerichte schade in de herfst van weinig betekenis. In het voorjaar is deze daarentegen groter. De blaadjes worden niet afgevreten maar uitgesabbeld. De aanwezigheid van de larve is kenbaar aan de kruimelige grondhoopjes (als bij regenwormen), terwijl de uitgesabbelde blaadjes als een prop in de kanaaltjes zijn getrokken. De schade, aangericht door de larven, is altijd aanzienlijk ook al blijft het hartblad nog gezond en al herstelt zich het gewas. Vroeg gezaaide rogge verdraagt de aantasting beter dan laat gezaaide. Bij schaarste aan voedsel trekken de larven verder over geakkerde velden en zelfs over wegen.

*Vijanden*

De natuurlijke vijanden van de graanloopkever zijn: de mol, de roek en een grote loopkever. Verder is ook nog een sluipvlieg uit de familie der Tachinidae als vijand bekend (*Viviania cinerea* Fall.). Genoemde sluipvlieg legt haar eitjes in het achterlijf der kevers. Tijdens de ontwikkeling van de sluipvlieg-larve sterft de kever. Voorts komt onder de kevers nog een schimmelziekte voor. Aan deze ziekte lijdt een groot aantal graanloopkevers, die dan na een langzaam kwijnen sterven. Kevers, die door deze ziekte niet worden aangetast, blijven over tot het volgend voorjaar. De zieke exemplaren zijn in de herfst goed te herkennen; zij kruipen veel langzamer over de grond en men vindt ze omstreeks half October onbeholpen in de karresporen der veldwegen, waar ze dan een vluggere dood vinden onder de karrewielen. Deze ziekte is het best te vergelijken met de *Empusa*-ziekte, die in de herfst onder de huisvliegen voorkomt.

Op bepaalde percelen viel gedurende de winter 1948 49 een aanzienlijke vermindering van het aantal larven te constateren. Het is niet onmogelijk, dat ook hier parasitaire schimmels in het spel zijn geweest.

*Bestrijding*

Onder de gemeente Nieuwstadt en Einighausen zijn in het voorjaar van 1948 verschillende bestrijdingsproeven aangelegd met HCH-houdende middelen.

Op twee percelen wintertarwe en een perceel zomergerst werden naast elkaar beproefd:

| | |
|---|---|
| Hexyclan 2 % . . . . . | 200 kg per ha |
| Hexyclan 5 % . . . . . | 100 kg per ha |
| Agrocide 5 % . . . . . | 100 kg per ha |

Tussen de behandelde veldjes lagen onbehandelde.

Op de behandelde veldjes was de vreterij niet zo ver voortgeschreden als op de onbehandelde, al was er, na het toedienen en in-eggen van genoemde HCH-middelen toch nog een duidelijke voortgang der aantasting te constateren. Enkele weken ná de toediening van de middelen scheen op de behandelde veldjes de vreterij door de larven van de graanloopkever te verminderen. Op de niet behandelde veldjes ging de aantasting nog enige tijd door. Ons vermoeden was, dat bedoelde bestrijdingsproeven te laat waren genomen.

Voorts werd op een perceel, waar rogge na rogge werd verbouwd, een bestrij-

dingsproef aangelegd met de HCH-middelen Hexyclan en Agrocide (5 %; 200 kg per ha). De behandeling was als volgt. Er werden veldjes behandeld op 1 October 1948, 3 dagen voor het zaaien der rogge; het preparaat werd ingewerkt met de cultivator en de eg. De tweede serie veldjes werd behandeld op 29 Oct. 1948, toen de rogge ± 3 cm hoog op het veld stond; de middelen werden ingewerkt met de eg. De derde serie werd behandeld na de winter op 15 Februari 1949; de middelen werden toen eveneens met de eg in de grond gewerkt.

Tussen de behandelde veldjes lagen diverse onbehandelde. In het begin meenden we, dat de het eerst behandelde veldjes een iets betere stand vertoonden dan de onbehandelde, doch de verschillen tussen bedoelde veldjes waren niet zo duidelijk en scherp, dat men de iets betere stand aan de middelen toe mocht schrijven.

Ook werd nog een bestrijdingsproef genomen op aangetaste wintertarwe met als bestrijdingsmiddel calciumarsenaat in 1 en 2 % concentratie met uitvloeier. De behandeling vond plaats in het voorjaar; eerste behandeling 24 Maart 1949, tweede behandeling 6 April 1949. Ook deze proef leverde geen resultaten op. De zichtbare schade ging op de behandelde veldjes en ook op de onbehandelde door tot ± 1 April; hierna begonnen de granen door te schieten en de schade bleef beperkt.

Bij proeven in voorgaande jaren is ons gebleken, dat het op minder zwaar aangetaste percelen en plekken in percelen is aan te raden om voor te verwachten regen 200–300 kg kaïniet per ha te strooien. De larven blijven na het geven van dit zout geruime tijd dieper in de grond zitten, waardoor het gewas tijdelijk met rust gelaten wordt. De larven voeden zich dan met organische resten, dus niet met delen van de groeiende cultuurplanten.

Om besmetting door buurpercelen te voorkomen kan worden geadviseerd de randen van de percelen te bestrooien met chloorkalk.

Een afdoend bestrijdingsmiddel om de vraatzuchtige larven te bestrijden is nog niet gevonden.

Een juiste gewassenkeuze en goede vruchtwisseling is in streken, waarin de graanloopkever voorkomt, dringend gewenst.

Men moet de teelt van rogge, tarwe en gerst op aangetaste percelen zoveel mogelijk beperken en nooit twee keer achter elkaar rogge verbouwen. Bij de keuze van percelen, waarop wintergraan verbouwd zal worden, dient men erop te letten, welk gewas op de buurpercelen verbouwd is.

Op de aangetaste percelen kan men aardappelen, voeder- en suikerbieten, paarden- en duivenbonen, vlas, wortelen en haver verbouwen.

# ENIGE PROEVEN MET BESTRIJDINGSMIDDELEN TEGEN DE LARVE VAN DE LAPSNUITTOR (= TAXUSKEVER), SCHADELIJK AAN CYCLAMENPLANTEN [1])

*With a summary:*
*Control experiments against Otiorrhynchus sulcatus L. noxious to Cyclamens*

DOOR

F. E. Loosjes

(Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen)

In het najaar van 1949 bereikte ons de vraag of wij een bestrijdingsadvies konden geven voor een plaag van de zgn. lapsnuittor (= taxuskever)larve (*Otiorrhynchus sulcatus* L.) in cyclamenplanten in potten. De „Tuinbouwgids" maakt in dit opzicht de belangstellende lezer niet veel wijzer.

De bestrijding van de kevers zelf, het uitleggen van hoopjes appelschillen, -pulp of gedroogde peen met 3,5 % kiezelfluornatrium is al genoegzaam bekend en ingeburgerd. Ook kan men hoopjes houtwol uitleggen, waarin de dieren zich verzamelen, en deze dan vernietigen.

Wij verzochten de vraagsteller om ons aan larven te helpen om enkele gevoeligheidsproeven, ook met nieuwere, nog in onderzoek zijnde middelen, te kunnen doen, en ontvingen een aantal larven, groot genoeg om enkele oriënterende proeven in te zetten. Deze proeven zijn uitgevoerd met medewerking van de dames C. van Riel, G. van de Peppel en de Heer P. de Bruyn.

Gestoven werd in het laboratorium op de dieren zelf met:

Chlordan 10 %,
DDT 10 %,
Gechloreerd campheen 10 %,
HCH 5 % ruw en
Octalox 5 %, naar rato van ca 32 kg per ha.

Met het aanhechtende poeder werden de larven op bladaarde in flessen gebracht. Na een week was de doding overal onbelangrijk of nihil.

Vervolgens is op de larven gespoten met:

| | |
|---|---|
| Chlordan 40 % spuit | 1 op 400 |
| Chlordan 40 % vloeibaar | 1 op 400 |
| DDT 10 % spuit | 1 op 100 |
| DDT 20 % vloeibaar | 1 op 200 |
| gechloreerd campheen 25 % spuit | 1 op 250 |
| gechloreerd campheen 50 % vloeibaar | 1 op 500 |
| HCH 10 % ruw, spuit | 1 op 100 |
| HCH 50 % ruw, vloeibaar | 1 op 500 |
| Octalene 25 % spuit | 1 op 500 |
| Octalene 25 % vloeibaar | 1 op 500 |
| Octalox 15 % spuit | 1 op 400 |
| Octalox 15 % vloeibaar | 1 op 400 |

[1]) Ontvangen voor publicatie Juni 1950.

parathion 7½ % spuit . . . . . 1 op 500
parathion 7½ % vloeibaar . . . . . 1 op 500

Met „spuit" worden bedoeld, verspuitbare poeders; met „vloeibaar" emulgeerbare oplossingen in organische oplosmiddelen of oliën.

Ook bij deze proef viel practisch geen doding te constateren, zelfs niet een week na de bespuiting.

Vervolgens werden larven gebracht in petrischalen waarin zich grond bevond, doordrenkt met een van de in het onderstaande vermelde middelen. Na een uur werden de larven in onbehandelde grond overgezet. De gebruikte middelen waren:

Chlordan 40 % vloeibaar . . . . . 1 op 800
gechloreerde campheen 25 % spuit . . . . 1 op 1000
gechloreerde campheen 50 % vloeibaar . . 1 op 1000
HCH 10 % ruw, spuit . . . . . 1 op 200
HCH 50 % ruw, vloeibaar . . . . . 1 op 1000
Octalox 15 % vloeibaar . . . . . 1 op 1000
parathion 7½ % spuit . . . . . 1 op 1000
parathion 7½ % vloeibaar . . . . . 1 op 1000

Na een week was het resultaat nog nihil.

Deze drie proefjes laten wel zien hoe ongevoelig de larven zijn.

In het Decembernummer van 1949 van de „Mededelingen" van de Rijkstuinbouwconsulent voor Plantenziekten deelt Dr E. F. Jacobi enkele ervaringen mede, opgedaan bij de bestrijding van de lapsnuittor-larve. Voor ons was daarvan in het bijzonder belangrijk, dat bij toepassing van een HCH 10 % stuifmiddel, 1,16 kg per RR tot 5 cm diepte met de grond vermengd, naderhand geen vreterij en geen larven werden aangetroffen.

Om de tolerantie van Cyclamenplanten voor enkele middelen na te gaan, hebben wij hiervan uitgaande 1, 2 en 4 gram van het betrokken bestrijdingsmiddel vermengd met een liter uitgezeefde bladaarde. Met elke liter bladaarde zijn daarna drie potjes gevuld, waarna in ieder daarvan een Cyclamenplantje is overgepoot. De volgende middelen zijn toegepast:

Chlordan 10 %
DDT 5 %
gechloreerd campheen 10 %
HCH 5 %
Octalox 5 %

Van ieder middel is dus 1, 2 en 4 gram per liter aarde gebruikt. Het resultaat van iedere behandeling was te controleren aan drie plantjes.

Drie plantjes sloegen niet aan na het overpoten. De rest werd gedurende 3½ maand om de week gecontroleerd; sommige plantjes kwamen slechts zeer langzaam bij; enkele andere voerden een kwijnend bestaan. In grote lijnen echter bleken de middelen bij deze reeds bloeiende jonge plantjes in de gegeven concentraties niet dodelijk te zijn. Bij de gift van 4 gram waren bij alle middelen nog twee van de drie plantjes niet van de onbehandelde, doch alleen overgepote plantjes te onderscheiden. Bij een gift van 2 gram was alleen bij de behandeling met Octalox een plantje dood, de anderen waren alle niet van de blanco te scheiden.

Helaas beschikten wij niet over voldoende larven om deze in groot aantal over de potjes te verdelen.

Wij voegden aan ieder potje een maand na het verpotten slechts 1 larve toe.

Bij het beëindigen van de proef leverde dat nog de conclusie op, dat DDT 5 %, 2 gram per liter aarde en Octalox 5 %, 2 gram per liter aarde, niet voldoende is om de larven te doden.

Daar het vermengen van de grond met poedervormige middelen slechts als preventieve maatregel van practisch belang kan zijn, omdat verpotten voor oudere planten te bezwaarlijk is, hebben wij meer aandacht besteed aan een directe bestrijdingsmethode, opdat men bij het constateren van de plaag nog kan ingrijpen.

Wij dachten aan begieten met diverse middelen, doch vreesden dat bij begieten de vloeistoffen een bepaalde weg zouden volgen en daardoor enerzijds plaatselijk te hoge, voor de planten schadelijke, concentraties van bestrijdingsmiddelen zouden kunnen opleveren, anderzijds elders te lage concentraties zouden kunnen doen ontstaan, waardoor de dieren onvoldoende zouden worden geraakt. In plaats van begieten hebben wij ons daarom bepaald tot het in de vloeistoffen zetten van de potten en wel zodanig, dat de vloeistof juist boven het oppervlak van de aarde in de potten staat. Een dergelijke onderdompeling hebben wij gedurende twee uur met diverse middelen toegepast.

Steeds ondergingen vier potjes met een Cyclamenplant dezelfde behandeling. Twee daarvan bevatten larven, de andere twee niet. Na een maand werd de serie met de larven opgeruimd, waarbij de stand van de planten werd opgenomen en de larven werden verzameld. Tevens is toen de andere serie met larven geïnfecteerd. Wederom na een maand is ook deze laatste serie gecontroleerd. Lang niet altijd werden de 6 tot 8 larven teruggevonden, vaak waren ze al te ver vergaan; levende larven of poppen konden echter onmogelijk over het hoofd gezien worden. Over de planten stonden gazen kooitjes om eventueel uitgekomen kevers op te vangen.

De resultaten verkregen met de verschillende middelen zijn weergegeven in tabel 1.

Uit deze tabel blijkt, dat alleen bij de DDT-emulsie, waarbij de larven zelf mede ondergedompeld zijn geweest, geen enkele levende pop of larve meer aanwezig is. Indien de larven pas een maand na de onderdompeling op de potten worden gebracht, is ook deze behandeling niet meer afdoende. Bij alle andere middelen is minstens één levende pop of larve teruggevonden een maand na de onderdompeling; het is duidelijk, dat dan ook de na de behandeling opgebrachte larven niet alle gedood worden.

Bij de behandeling met emulgeerbare middelen blijken weinig levende poppen terug te vinden te zijn, veel minder althans dan bij de met verspuitbare poeders behandelde objecten. Tenslotte beseffen wij zeer wel, dat gezien het geringe aantal proefdieren, het niet terugvinden van levende exemplaren nog geen bewijs is voor de goede werking van dit middel; het terugvinden van 1 levende pop of larve is echter wel doorslaggevend voor de onvoldoende betrouwbaarheid van de werking van het in een dergelijk geval gebruikte middel.

De beschadiging aan de planten na een verblijf van 2 uur in de middelen viel ons erg mee. Zoals reeds in tabel 1 is vermeld, gaven bepaalde middelen (Octalene, Octalox en parathion) kort na de toepassing een zeer sterke achteruitgang van de planten te zien; wel haalden de planten het meestal weer op, doch verhoging van de concentratie om tot volledige doding van de dieren te kunnen komen is zeker niet gewenst. Met de andere middelen is mogelijk door verhoging van de concentratie iets te bereiken.

Tabel 1

| Behandeling | | Planten waarbij larven aanwezig waren tijdens de behandeling | | | | | Planten waarbij een maand na de behandeling larven zijn gebracht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Contrôle na 1 maand | | | | Stand van de planten | | Contrôle na 1 maand | | | |
| | | | Poppen | | Larven | | | | Poppen | | Larven | |
| Middel | Verdunning | Stand van de planten 1 maand na de behandeling | Levend | Dood | Levend | Dood | 1 maand na de behandeling, dus bij opbrengen van de larven | 2 maanden na de behandeling, dus 1 maand na het opbrengen van de larven | Levend | Dood | Levend | Dood |
| Uitvloeier (blanco) | 1 op 1000 | goed | 1 | 1 | 0 | 4 | goed | goed | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | | goed | 2 | 0 | 2 | 2 | goed | goed | 2 | 0 | 1 | 1 |
| Chlordan 40 % spuit | 1 op 200 | goed | 0 | 0 | 5 | 2 | goed | goed | 0 | 0 | 3 | 1 |
| | | goed | 0 | 0 | 4 | 1 | goed | goed | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Chlordan 40 % vloeibaar | 1 op 200 | goed | 0 | 0 | 2 | 3 | goed | goed | 0 | 0 | 1 | 3 |
| | | goed | 0 | 0 | 2 | 2 | goed | goed | 0 | 0 | 3 | 1 |
| DDT 10 % spuit | 1 op 50 | goed | 1 | 0 | 2 | 1 | goed | goed | 1 | 0 | 0 | 3 |
| | | goed | 2 | 0 | 1 | 2 | goed | goed | 1 | 0 | 3 | 0 |
| DDT 20 % stockemulsie | 1 op 100 | goed | 0 | 0 | 0 | 5 | matig | matig | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | | goed | 0 | 0 | 0 | 6 | goed | goed | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HCH 10 % spuit | 1 op 50 | goed | 0 | 0 | 1 | 2 | goed | goed | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | | goed | 1 | 0 | 3 | 0 | goed | goed | 0 | 0 | 2 | 1 |
| HCH 50 % vloeibaar | 1 op 250 | goed | 0 | 0 | 1 | 2 | goed | goed | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | matig | 1 | 0 | 1 | 2 | matig | goed | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Octalene 25 % spuit | 1 op 250 | goed | 3 | 0 | 1 | 1 | goed | goed | 1 | 0 | 3 | 0 |
| | | goed | 1 | 0 | 2 | 3 | goed | goed | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Octalene 25 % vloeibaar | 1 op 250 | goed [1]) | 0 | 0 | 2 | 1 | slecht | goed | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | | goed [1]) | 0 | 0 | 0 | 2 | slecht | matig | 0 | 0 | 1 | 3 |
| Octalox 15 % spuit | 1 op 250 | goed | 4 | 0 | 2 | 0 | goed | goed | 0 | 0 | 3 | 0 |
| | | goed | 0 | 0 | 3 | 3 | goed | goed | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Octalox 15 % vloeibaar | 1 op 250 | goed [1]) | 0 | 0 | 0 | 2 | matig | goed | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | | goed [1]) | 0 | 0 | 1 | 4 | matig | goed | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Parathion 7½ % spuit | 1 op 250 | goed | 0 | 0 | 1 | 3 | goed | goed | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | goed | 0 | 0 | 0 | 4 | goed | goed | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Parathion 7½ % vloeibaar | 1 op 250 | matig [1]) | 0 | 0 | 3 | 3 | goed [1]) | goed | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | matig [1]) | 0 | 0 | 3 | 3 | goed [1]) | goed | 0 | 0 | 0 | 0 |

[1]) Direct na de behandeling gingen de planten sterk achteruit, ze herstelden zich echter op de duur weer.

Speciaal voor een DDT-emulsie hebben wij nagegaan in hoeverre de planten in de kas verhoging van de concentratie of verlenging van de tijdsduur van behandeling nog konden verdragen. Daartoe is een 20 % DDT-stockemulsie gebruikt in de concentraties: 1 op 200, 1 op 100, 1 op 50, 1 op 25 en 1 op 12½. Met deze verdunningen zijn Cyclamenplantjes in potten behandeld (3 per verdunning en per tijdsduur van onderdompeling) door plaatsen in de vloeistoffen gedurende 2, 4, 8 en 16 uren. Daarbij stond de potgrond wederom juist onder de vloeistof-oppervlakte.

Deze proef heeft ruim anderhalve maand gelopen en is iedere week gecontroleerd. Wij laten hieronder alleen het eindresultaat volgen.

Tabel 2

| | Behandeling, onderdompeling gedurende | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2 uur | 4 uur | 8 uur | 16 uur |
| Uitvloeier (blanco). . . . . | g.g.g. | m.g.g. | g.g.m. | g.g.g. |
| DDT 20%, stockemulsie: | | | | |
| 1 op 200 . . . . . | g.g.g. | g.g.g. | g.g.g. | g.g.g. |
| 1 op 100 . . . . . | g.g.g. | m.m.s. | g.g.g. | g.g.g. |
| 1 op 50 . . . . . | m.g.g. | g.g.s. | m.m.g. | g.g.g. |
| 1 op 25 . . . . . | m.m.s. | s.s.s. | m.m.m. | s.s.m. |
| 1 op 12½ . . . . . | s.s.s. | s.s.s. | s.s.s. | s.s.s. |

goed = g; matig = m; slechte stand = s. Van ieder plantje is dus de beoordeling afzonderlijk in de tabel aangegeven.

Uit deze tabel blijkt duidelijk, dat de duur van de onderdompeling niet erg belangrijk is; dat is ook wel begrijpelijk, daar de aarde in de potjes door de onderdompeling sliknat werd en maar zeer langzaam zal indrogen. Het werkelijke contact van de planten met de met vloeistof verzadigde grond is daardoor veel langer dan 2, 4, 8 of 16 uur. Een dosis van 1 op 100 is dus wel de hoogst toepasbare concentratie onder de proefomstandigheden bij opstelling in de kas.

Wij ontveinzen ons niet, dat bij deze proeven slechts oriënterende gegevens zijn verkregen op basis waarvan verder werk zal moeten worden gedaan om tot een voor de practijk bruikbaar voorschrift te komen.

Vanwege het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek is aan Ir G. S. VAN MARLE te Aalsmeer opgedragen de bestrijdingsmogelijkheden van de lapsnuittor (= Taxuskever) en diens larve na te gaan. Wij zetten derhalve onze proeven niet verder voort en verwijzen belangstellenden naar de t.z.t. te verwachten I.P.O.-publicatie.

Tenslotte rest ons nog dank te brengen aan Directie en personeel van het Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt voor de verleende medewerking bij deze proeven.

SUMMARY

Some tests are described which were made with the intention to find out a reliable method to kill the grubs of *Otiorrhynchus sulcatus* L. in pots with cyclamen plants. These grubs may be a pest on cyclamen in glass-houses.

We found that a 2 hours' immersion of the pots into a DDT-emulsion, containing 0.2 % technical DDT, was rather effective against the grubs, whereas healthy cyclamen-plants were not damaged by the treatment.

If BHC, chlordane or parathion in corresponding percentages were used in the same way, some living larvae were still present a month after the immersion. Emulsions gave better results than suspensions.